

3. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИСТОГРАММ ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ НЕДОСТАЮЩИХ СТРУКТУРНЫХ ФАКТОРОВ.

3.1. Введение.

В этом разделе мы рассмотрим одну из первых задач, при решении которой оказалась полезной информация о гистограмме, отвечающей искомому синтезу. В практической работе набор структурных факторов, использующихся при расчете синтеза Фурье, далеко не всегда является полным. Для части рефлексов не удается сколь-нибудь надежно определить значения фаз, а для части могут быть даже не определены значения модулей структурных факторов. Обычная практика - синтез Фурье рассчитывается без этих рефлексов, то есть значения соответствующих структурных факторов заменяются нулями. Однако исключение из расчета даже небольшого числа рефлексов может оказать существенное влияние на качество синтеза, если это исключение носило "систематический" характер. Особенно важны в этом отношении низкоугловые рефлексы, определяющие в значительной мере внешние очертания молекулы. В ситуации, когда нам известна гистограмма, которой должен обладать "правильный" синтез, мы можем попытаться подобрать для неизвестных структурных факторов такие значения (взамен нулевых), которые приведут к синтезу, имеющему более правильную гистограмму. Ниже будет более строго изложен такой подход, описаны пути его компьютерной реализации и приведены результаты опробования метода на тестах и в практической работе.

Говоря об определении недостающих структурных факторов из условия наилучшего согласования теоретической и рассчитанной гистограмм, следует, разумеется, понимать, что речь идет об определении сравнительно небольшого числа неизвестных величин при условии, что большая часть необходимых для расчета синтеза структурных факторов известна. Особенно это относится к ситуации, когда делается попытка доопределить модули структурных факторов, не определенные по каким-то причинам экспериментально.

3.2. Влияние пропущенных рефлексов на качество синтеза электронной плотности.

При рентгеноструктурном исследовании макромолекул набор структурных факторов, используемых для расчета синтеза Фурье

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{|V|} \sum_{|\mathbf{s}| \leq s_{\max}} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi(\mathbf{s})} e^{-2\pi i(\mathbf{s}, \mathbf{r})}, \quad (3.1)$$

часто не является полным даже внутри ограниченной по разрешению зоны обратного пространства $|\mathbf{s}| \leq s_{\max} = 1/d$. Причиной может служить как то, что иногда в процессе рентгеновского эксперимента не удается измерить значения модулей некоторых структурных факторов, так и то, что для некоторых рефлексов не удалось сколь-нибудь надежно определить фазы структурных факторов. Может возникнуть впечатление, что невключение в расчет синтеза нескольких сотен (или даже десятков) слагаемых (при общем числе слагаемых в (3.1) тысячи и десятки тысяч) не может существенно исказить синтез. Это не так ! "Систематическое" исключение даже относительно небольшого

числа рефлексов из расчета синтеза может существенно ухудшить интерпретируемость синтеза. На Рис.3.1. показан эффект исключения из расчета синтеза около 17% слагаемых (группировавшихся в основном вдоль кристаллографической оси 1). Синтезы, показанные на Рис.3.2. различаются лишь отсутствием в первом из них 29 низкоугловых рефлексов ([94]).

Отсутствие малоугловых рефлексов - типичный пример неполноты набора структурных факторов. В то же время, именно эти рефлексы "ответственны" за формирование внешних очертаний молекулы. Так, использование при определении структуры комплекса yeast tRNA^{Asp}- aspartyl-tRNA synthetase лишь данных нейтронного рассеяния с $s_{max} \leq 1/22\text{\AA}$ позволило ([95]) определить положение и внешние очертания отдельных частей комплекса. Исключение из синтеза рефлексов центральной зоны может приводить к затруднениям в определении положения и формы молекулы, даже если фазы остальных структурных факторов определены достаточно точно ([66]). Известны примеры ([96]), когда добавление в синтез всего трех десятков малоугловых рефлексов существенно улучшало качество синтеза. В работе [94] показано, что выбрасывание из синтеза рефлексов центральной зоны ухудшает синтез в большей мере, нежели наличие ошибок в координатах тяжелых атомов при расчете фаз методом изоморфного замещения или использовании только одного тяжелоатомного производного. Математическое описание эффекта удаления из синтеза рефлексов центральной зоны дано в работе [97].

Другим источником существенных искажений синтеза может быть пропуск в сумме (3.1) слагаемых, отвечающих "сплошным

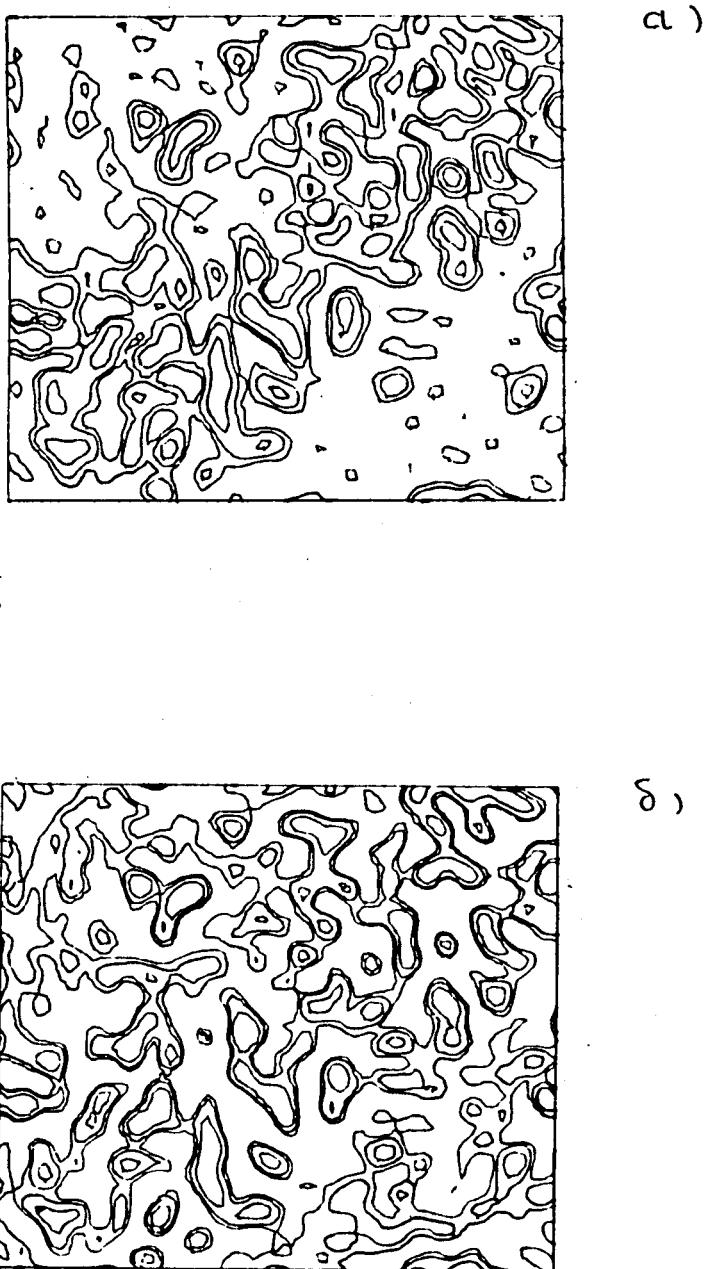


Рис.3.1. Сечение $z = 9 / 36$ синтезов разрешения 4\AA для субтилизина : а) полный набор рефлексов; б) около 18% рефлексов исключены из синтеза.

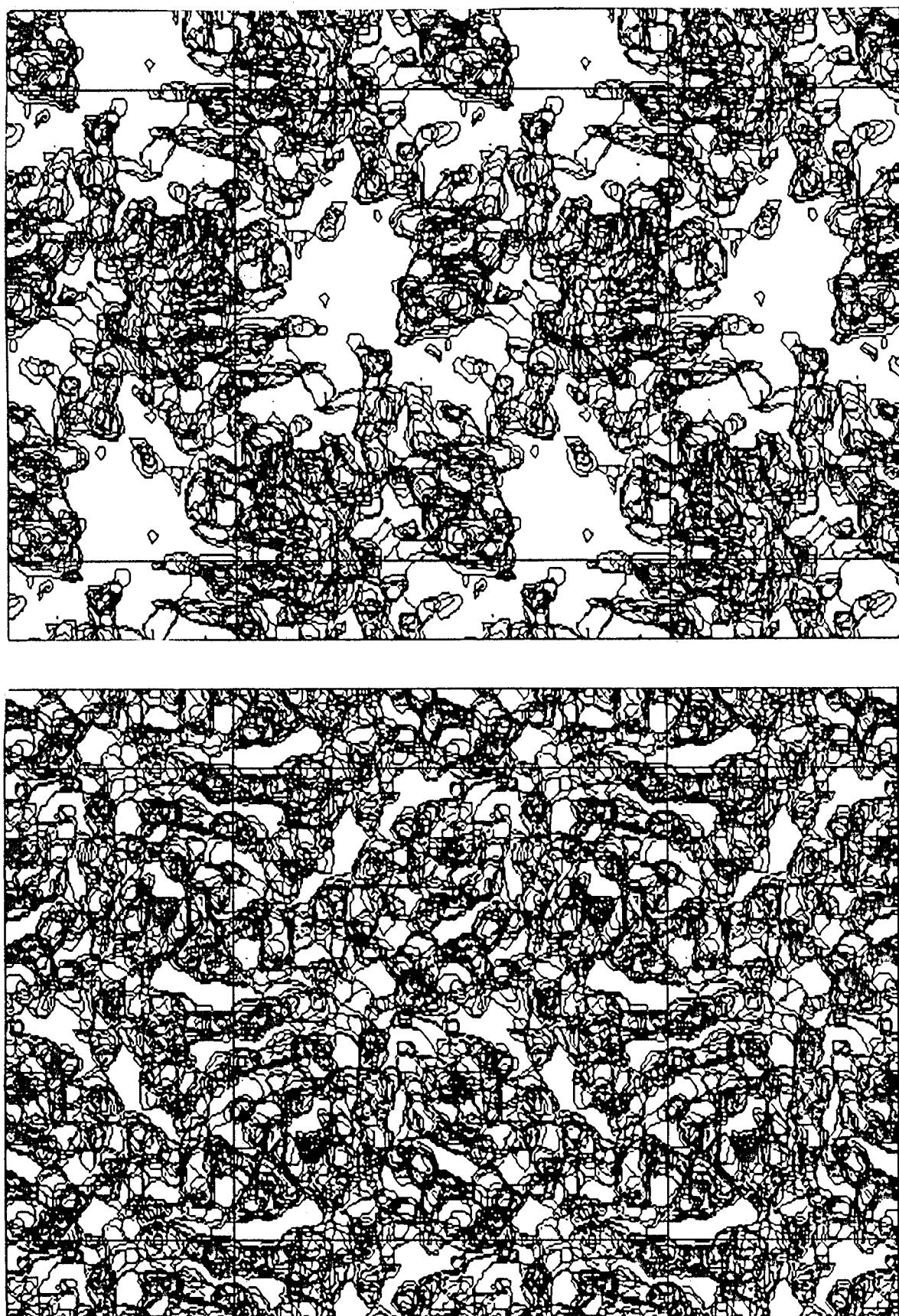


Рис. 3.2. Синтезы разрешения 8 Å для elongation factor G
a) полный набор рефлексов;
b) 29 рефлексов зоны $\infty - 30$ Å исключено из синтеза.

"кускам" обратного пространства. Мы опишем ниже эффект исключения из синтеза Фурье рефлексов, заполняющих плоскость в решетке обратного пространства.

Пусть \mathcal{R} и \mathcal{R}' – решетки прямого и обратного пространств, то есть совокупности точек вида $ha+kb+lc$ и $ha^*+kb^*+lc^*$, где a, b, c и a^*, b^*, c^* – базисы прямого и обратного пространств, h, k, l – произвольные целые числа. Совокупность узлов в решетки \mathcal{R}' , лежащих в одной плоскости, может быть задана уравнением

$$(\mathbf{s}, \mathbf{n}) = m, \quad (3.2)$$

где вектор $\mathbf{n} \in \mathcal{R}$ и целое число m определяют выбор конкретной плоскости (при $m = 0$ плоскость проходит через начало координат). Так, например, плоскости $h01$ отвечает $\mathbf{n} = (0, 1, 0)$, $m = 0$.

Пусть $\rho(\mathbf{r})$ – синтез (3.1), построенный по полному набору рефлексов заданной зоны разрешения, а $\rho_n(\mathbf{r})$ – искаженный синтез, при расчете которого из суммы (3.1) были исключены слагаемые с $(\mathbf{s}, \mathbf{n}) = \pm m$ (исключение из синтеза при $m \neq 0$ сразу двух плоскостей вызвано эрмитовой симметрией структурных факторов). Обозначим $p(\mathbf{r}; \mathbf{n}, m)$ – величину "ослабления синтеза" $\rho(\mathbf{r})$ в точке \mathbf{r} за счет исключения из суммы (3.1) слагаемых с $(\mathbf{s}, \mathbf{n}) = \pm m$:

$$p(\mathbf{r}; \mathbf{n}, m) = \rho(\mathbf{r}) - \rho_n(\mathbf{r}) = \quad (3.3)$$

$$= \frac{1}{|\nabla|} \sum_{|\mathbf{s}| \leq s_{\max}, (\mathbf{s}, \mathbf{n}) = \pm m} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi(\mathbf{s})} e^{-2\pi i(\mathbf{s}, \mathbf{r})}.$$

Величина $p(\mathbf{r}; \mathbf{n}, m)$ может быть выражена через значения функции $\rho(\mathbf{r})$ следующим образом:

$$p(\mathbf{r}; \mathbf{n}, 0) = \int_0^1 \rho(\mathbf{r} + a\mathbf{n}) da, \quad (3.4)$$

$$p(\mathbf{r}; \mathbf{n}, m) = 2 \int_0^1 \rho(\mathbf{r} + \alpha \mathbf{n}) \cos(2\pi m \alpha) d\alpha, \quad m \neq 0. \quad (3.5)$$

В самом деле, используя равенство (3.1), имеем

$$\begin{aligned} & \int_0^1 \rho(\mathbf{r} + \alpha \mathbf{n}) e^{2\pi i m \alpha} d\alpha = \\ &= \frac{1}{|\nabla|} \sum_{|\mathbf{s}| \leq s_{\max}} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi(\mathbf{s})} \int_0^1 e^{-2\pi i (\mathbf{s}, \mathbf{r} + \alpha \mathbf{n})} e^{2\pi i m \alpha} d\alpha = \\ &= \frac{1}{|\nabla|} \sum_{|\mathbf{s}| \leq s_{\max}} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi(\mathbf{s})} e^{-2\pi i (\mathbf{s}, \mathbf{r})} \int_0^1 e^{-2\pi i [(\mathbf{s}, \mathbf{n}) - m] \alpha} d\alpha = \\ &= \frac{1}{|\nabla|} \sum_{|\mathbf{s}| \leq s_{\max}, (\mathbf{s}, \mathbf{n}) = m} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi(\mathbf{s})} e^{-2\pi i (\mathbf{s}, \mathbf{r})}, \end{aligned} \quad (3.6)$$

поскольку интеграл в предпоследней строке обращается в нуль при $(\mathbf{s}, \mathbf{n}) \neq m$.

Равенства (3.4)-(3.5) вместе с равенством

$$\rho_n(\mathbf{r}) = \rho(\mathbf{r}) - p(\mathbf{r}; \mathbf{n}, m) \quad (3.7)$$

позволяют описать тенденции изменения синтеза при удалении из суммы (3.1) слагаемых, отвечающих целым плоскостям обратного пространства.

Если $m = 0$ (удаляемая плоскость обратного пространства проходит через начало координат), то из формулы (3.4) следует, что величина ослабления синтеза в точке \mathbf{r} равна среднему значению "точного" синтеза $\rho(\mathbf{r})$ вдоль отрезка в прямом пространстве $\{\mathbf{r} + \alpha \mathbf{n}\}_{\alpha \in (0, 1)}$. Пусть, для примера, речь идет об исключении из синтеза (3.1) рефлексов вида $h01$ (то есть, $\mathbf{n} = (0, 1, 0)$, $m = 0$). Переходя к относительным координатам (x, y, z) в элементарной ячейке, мы имеем в такой ситуации

$$p(\mathbf{r}; \mathbf{n}, m) = \hat{p}(x, z) = \int_0^1 \rho(x, y, z) dy. \quad (3.8)$$

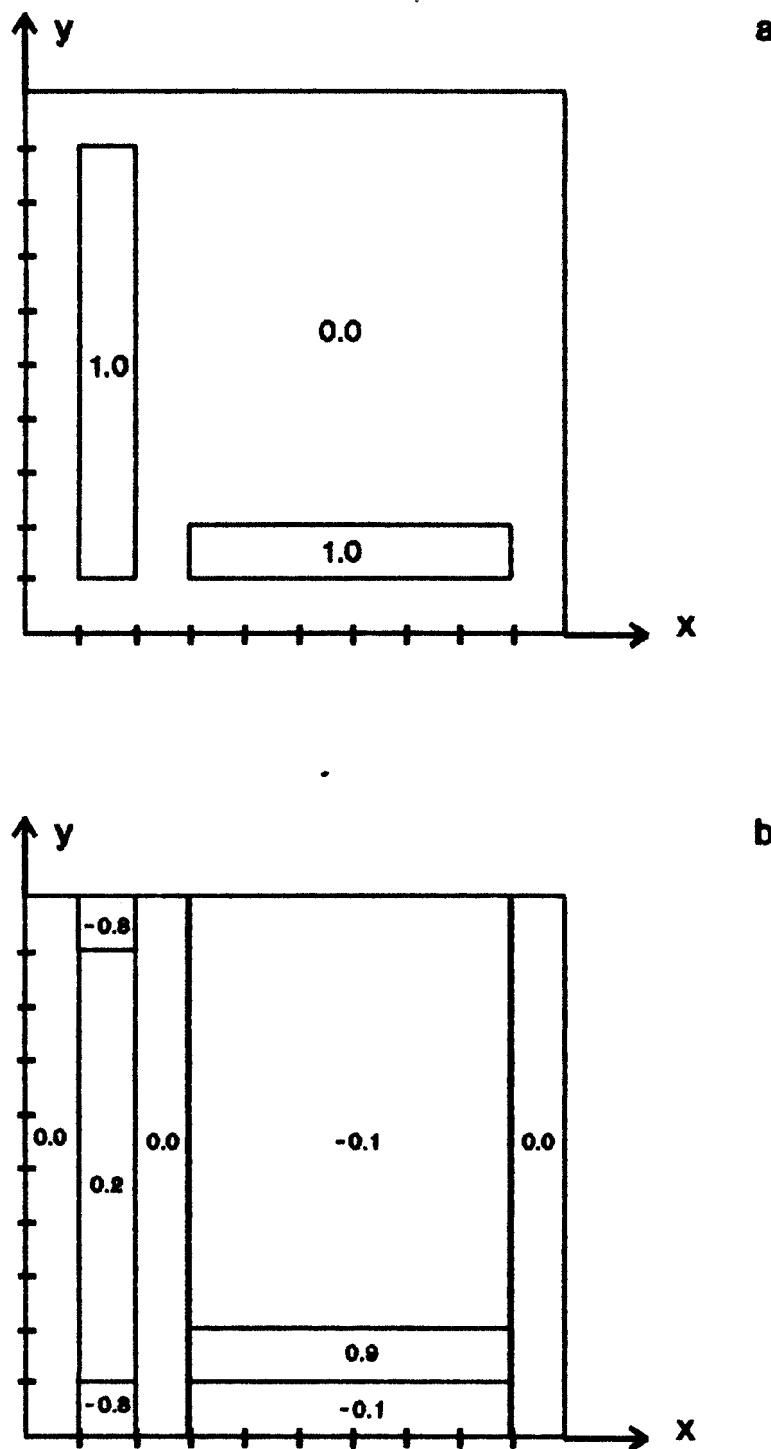


Рис. 3.3. Результат удаления из синтеза рефлексов $h01$.
 а) сечение $z=0$ модельной функции;
 б) то же сечение для синтеза Фурье с удаленными рефлексами $h01$ (цифры на рисунке обозначают значение плотности в соответствующих областях).

На Рис.3.3. приведен модельный пример, иллюстрирующий характер изменений в синтезе при выбрасывании из него рефлексов $h01$: значения функции ρ "сильно" уменьшаются на таких прямых $x=x_0$, $z=z_0$, для которых прямая, проходящая через точку (x_0, z_0) параллельно оси y , пересекает "много" участков высокой плотности $\rho(r)$. В частности, это приводит к тенденции "исчезновения" на синтезе $\rho_n(r)$ протяженных участков высокой плотности, вытянутых вдоль оси y .

Число слагаемых, исключаемых из синтеза (3.1) таких, что $(s, n) = 0$, тем меньше, чем больше значение $|n|$ (мы можем считать, что n выбран так, что $|n|$ – наименьший период функции $\rho(r)$ в направлении n). Соответственно мы можем ожидать, что искажения, вносимые в синтез удалением из расчета рефлексов с $(s, n) = 0$, будут тем меньше, чем больше $|n|$. Действительно, вычисление величины ослабления в (3.4) производится путем усреднения функции $\rho(r)$ по отрезку длины $|n|$ в прямом пространстве. При большом $|n|$ отрезок $\{r+an\}_{a \in (0,1)}$, будет проходить (с учетом пространственной периодичности) вблизи всех точек элементарной ячейки. Поэтому для больших $|n|$ величина $\rho(r; n, 0)$ будет близка к среднему значению $F_{ooo}/|V|$ плотности в элементарной ячейке, независимо от конкретного значения r . Поэтому изменение синтеза будет близко к синхронному уменьшению значений во всех точках на величину $F_{ooo}/|V|$, то есть искажения синтеза будут малы.

При удалении из синтеза плоскостей $(s, n) = \pm m$ ($m \neq 0$) величина ослабления синтеза в точке r определяется коэффициентом Фурье с индексом m функции

$$\psi(a) = \rho(r + an), \quad a \in (0,1) . \quad (3.9)$$

Значение этого коэффициента будет велико в тех случаях, когда функция $\phi(a)$ имеет детали, периодично повторяющиеся с периодом $1/m$. Это означает, что исключение из синтеза (3.1) плоскостей $(s, n) = \pm m$ будет вызывать тенденцию к ослаблению на синтезе деталей структуры, имеющих периодичность с периодом $|n|/m$ А вдоль направления n .

3.3. Восстановление недостающих структурных факторов.

Формулировка проблемы.

Предположим, что перед нами стоит задача вычисления синтеза Фурье конечного разрешения

$$\rho(r) = \frac{1}{|\mathcal{V}|} \sum_{|s| \leq s_{\max}} F(s) e^{i\phi(s)} e^{-2\pi i(s, r)}, \quad (3.10)$$

причем не все необходимые для расчета значения структурных факторов известны. Обозначим через S_d множество индексов s , отвечающих структурным факторам с известными модулем F° и фазой ϕ° . Пусть S_u обозначает множество индексов, отвечающих структурным факторам, для которых либо фаза, либо и модуль и фаза неизвестны. Для расчета синтеза (3.10) этим неизвестным структурным факторам нужно присвоить какие-то численные значения. Обычный путь – не включать эти рефлексы в синтез, то есть присвоить соответствующим структурным факторам нулевое значение – может приводить к заметным искажениям синтеза, описанным в разделе 3.2. Заметим, что выбор нулевых значений для неизвестных структурных факторов не является единственным возможным, поскольку любые другие значения для неизвестных структурных факторов столь же оправданы, как и нулевые. Более того, в ситуации, когда для структурного

фактора экспериментально получено ненулевое значение модуля, замена его в синтезе (3.10) нулем заведомо вносит ошибку.

Мы можем попытаться сделать более обоснованный выбор значений для неизвестных структурных факторов, если у нас имеется какая-то дополнительная информация о том, какими свойствами должен обладать синтез $\rho(r)$, который мы хотим получить. В таком случае мы можем пытаться доопределять неизвестные величины так, чтобы получаемая функция в максимальной мере отвечала этим дополнительным требованиям.

Допустим, что нам известна гистограмма $\{\nu_k^o\}_{k=1}^K$ (то есть набор частот (1.3)), которой должен обладать синтез Фурье $\rho(r)$ (мы будем называть ее эталонной гистограммой). Тогда для каждого пробного набора неизвестных структурных факторов мы можем проверить, насколько хорошо они согласуются с этой гистограммой, проделав следующую цепочку вычислений:

а) введем в элементарной ячейке некоторую сетку и рассчитаем значения пробного синтеза в узлах этой сетки

$$\begin{aligned} \rho_j^o = \rho^o(r_j) &= \frac{1}{|\nabla|} \sum_{s \in S_d} F^o(s) e^{i\varphi^o(s)} e^{-2\pi i(s, r_j)} + \\ &+ \frac{1}{|\nabla|} \sum_{s \in S_u} F^o(s) e^{i\varphi^o(s)} e^{-2\pi i(s, r_j)} ; \end{aligned} \quad (3.11)$$

б) рассчитаем гистограмму $\{\nu_k^o\}_{k=1}^K$, отвечающую полученному синтезу;

в) сравним, насколько близки эталонная и рассчитанная гистограмма, например, воспользовавшись критерием близости гистограмм типа

$$Q(\rho^o) = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K \frac{(\nu_k^o - \nu_k^o)^2}{\nu_k^o} . \quad (3.12)$$

Естественно считать, что наилучшим образом согласуется с

имеющейся гистограммой $\{\nu_k^o\}_{k=1}^K$, тот набор значений неизвестных структурных факторов, для которого величина (3.12) минимальна. То есть задача доопределения неизвестных значений структурных факторов может быть сформулирована как задача минимизации функции (3.12), в которой величины частот ν_k^o зависят от значений ρ_j^o пробного синтеза, а те в свою очередь определяются значениями F^o и φ^o искомых структурных факторов.

Разумеется, любые другие типы дополнительной информации об исследуемом объекте (наличие некристаллографической симметрии, информация об области, занятой растворителем и т.п.) могут тоже быть подключены в работу. Обычный подход в таких случаях – минимизация составного критерия, где каждое из слагаемых "отвечает" за выполнение одного из дополнительных условий.

3.4. "Вычислительная" постановка задачи.

Минимизация критерия (3.12) представляет собой сложную вычислительную задачу, осложняющуюся еще и тем, что к функции (3.12) неприменимы методы, использующие информацию о производных (методы минимизации первого порядка). Дело в том, что при "малых изменениях" варьируемых параметров значения ρ_j^o немного изменяются, но остаются лежать в тех же бинах, что и раньше. Поэтому значения частот ν_k^o не меняются при малых изменениях пробных значений структурных факторов, и все производные критерия (3.13) по варьируемым параметрам равны нулю. Мы модифицируем критерий качества пробного набора структурных факторов с тем, чтобы сделать его более

удобным для проведения процесса минимизации.

Как показано в разделе I.3, вычисляемые частоты $\{\nu_k^o\}_{k=1}^K$, могут быть определены формулой

$$\nu_k = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \lambda^*(t_k - \rho_j) , \quad (3.13)$$

где

$$\lambda^*(t) = \begin{cases} 1/\Delta & \text{при } |t| \leq \Delta/2 , \\ 0 & \text{при } |t| > \Delta/2 , \end{cases} \quad (3.14)$$

Δ – длина бинов, t_k – середины бинов.

"Плохие" свойства критерия (3.12) связаны, формально, с тем, что в вычислении величин ν_k участвует кусочно – постоянная функция $\lambda^*(t)$.

3.4.1. Квазичастоты и квазигистограммы.

Введем

ОПРЕДЕЛЕНИЕ. Пусть $\lambda(t) \geq 0$ – произвольная функция, для которой

$$\int_{-\infty}^{\infty} \lambda(\tau) d\tau = 1 . \quad (3.15)$$

Будем называть **квазичастотами** (связанными с функцией $\lambda(t)$) величины, вычисляемые по формуле

$$\tilde{\nu}_k = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \lambda(t_k - \rho_j) , \quad (3.16)$$

Совокупность квазичастот $\{\tilde{\nu}_k\}_{k=1}^K$ будем называть **квазигистограммой**.

Если функция $\lambda(t)$ непрерывно дифференцируема (или, по крайней мере, кусочно-непрерывно дифференцируема), то квазичастоты гладким образом зависят от значений модулей и фаз структурных факторов, использованных при вычислении функции $\rho(r)$. Это позволяет использовать более удобный

критерий качества пробного набора структурных факторов следующего вида.

Предположим, что нам известна эталонная квазигистограмма $\{\tilde{v}_k^o\}_{k=1}^K$, отвечающая искомой функции $\rho(r)$. Для пробного набора неизвестных структурных факторов $\{F^o(s) \exp(i\phi(s))\}_{s \in S_u}$ определим критерий качества

$$\tilde{Q} = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K \frac{(\tilde{v}_k^o - \tilde{v}_k^o)^2}{\tilde{v}_k^o}. \quad (3.17)$$

Теперь задача определения неизвестных значений структурных факторов может быть сформулирована как задача минимизации значения критерия (3.17). Для минимизации этого критерия была написана специальная программа, реализующая алгоритм наискорейшего спуска с использованием алгоритмов быстрого преобразования Фурье и быстрого дифференцирования [97-98]. При этом для вычисления квазичастот использовались кусочно-линейные функции вида

$$\lambda_\alpha(t) = \begin{cases} -(1/\alpha^2) |t| + 1/\alpha & \text{при } |t| \leq \alpha, \\ 0 & \text{при } |t| > \alpha. \end{cases} \quad (3.18)$$

Некоторые дополнительные вычислительные вопросы будут прокомментированы ниже в разделах 6.3 и 6.4.

Основная идея перехода к квазичастотам - мы перестаем относить вклад отдельной точки сетки к одному бину и начинаем "распределять" его между несколькими соседними binами. При этом, величины вкладов перераспределяются при изменениях значения ρ_j и делают тем самым квазичастоты чувствительными к малым изменениям ρ . Более строгий подход к введению квазичастот дает формула (I.7). Заменяя в левой части этой формулы интеграл соответствующей интегральной суммой, мы приходим к равенству

$$\tilde{\nu}_k = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N \lambda(t_k - \rho_j) \approx \int_{-\infty}^{\infty} \lambda(t-t)\nu(t)dt . \quad (3.19)$$

Эта формула дает, во первых, возможность вычисления эталонных квазичастот, связанных с произвольной функцией $\lambda(t)$ путем выполнения свертки эталонной гистограммы $\nu(t)$ с заданной функцией λ . Во-вторых, из нее видно, что переход к квазичастотам предсталяет из себя некоторое "сглаживание" исходного распределения частот, и изменение критерия \tilde{Q} по сравнению с критерием (3.12) состоит в том, что мы переходим от сравнения гистограмм пробного и точного синтезов к сравнению некоторых усредненных характеристик гистограмм.

3.4.2. Обработка нецентросимметричных (нц/с) рефлексов.

В случае, когда неизвестный структурный фактор соответствует нецентросимметричному рефлексу (то есть фаза может принимать произвольное значение) и модуль его неизвестен, нам необходимо задать два числа, чтобы определить этот структурный фактор. Этими числами могут быть либо его модуль и фаза, либо его вещественная и мнимая части

$$F(s) \exp[i\phi(s)] = f_R(s) + i f_I(s) . \quad (3.20)$$

При реализации алгоритма нам оказалось более удобным работать в естественных "декартовых" переменных f_R и f_I . В качестве начального значения для этих переменных при минимизации критерия (3.17) естественно взять нулевые значения, то есть пытаться "выращивать" неизвестный структурный фактор из нуля.

В случае, когда модуль структурного фактора известен, а неизвестна лишь фаза, может быть предложено два подхода к работе с таким рефлексом. Первый путь состоит в том, чтобы

включать в пробный синтез значение искомого структурного фактора в форме

$$F^o(s) \exp[i\varphi(s)] , \quad (3.21)$$

где только один параметр $\varphi(s)$ неизвестен, а $F^o(s)$ – заданное значение модуля структурного фактора. В этом случае существенная проблема – выбор начального значения фазы для процесса минимизации. Второй путь – считать по-прежнему, что имеется два независимо варьируемых параметра f_R и f_I , а в минимизируемый критерий (3.17) включено дополнительное слагаемое, штрафующее отклонение модуля пробного структурного фактора от предписанного значения F^o . Примером такого штрафа может быть функция :

$$(f_R^2 + f_I^2 - (F^o)^2)^2 . \quad (3.22)$$

При таком подходе естественное стартовое значение величин f_R и f_I – нуль.

Может быть применена также смешанная тактика – вначале, стартуя с нулевых значений, варьировать два параметра f_R и f_I (с дополнительным ограничением типа (3.22)), а затем, стартуя с возникшей в результате первого этапа минимизации фазы, начать варьировать один параметр φ , зафиксировав значение модуля на предписанной величине F^o . Ниже в разделе 3.5 дано сравнение этих подходов.

Следует отметить, однако, что широко используемый прием "подмены" вычисленного значения модуля структурного фактора экспериментально определенным значением :

$$F^o \exp[i\varphi^o] \rightarrow F^o \exp[i\varphi^o] \quad (3.23)$$

требует осторожности. Нетрудно видеть (см. Рис.3.4), что величина $F^o \exp[i\varphi^o]$ является более точным приближением к величине $F^o \exp[i\varphi^{exact}]$, нежели величина $F^o \exp[i\varphi^o]$,

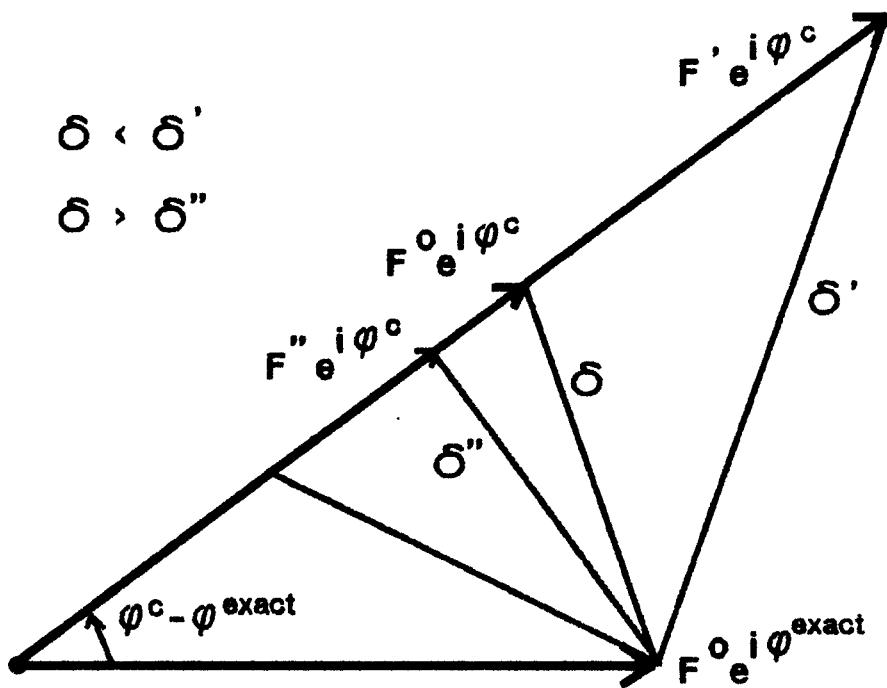


Рис.3.4. Эффект "подмены" рассчитанного значения модуля F^c его "экспериментальным" значением F^o .

только в случаях

$$\frac{F^o}{F^c} > 1 \text{ или } \frac{F^o}{F^c} < 1 - 4 \sin^2(\Delta\varphi/2) . \quad (3.24)$$

Здесь $\Delta\varphi = (\varphi^{\text{exact}} - \varphi^o)$ – ошибка в вычислении фазы φ^o . В частности, если $|\Delta\varphi| > \pi/3$, то при всех $F^o < F^c$ величина $F^o \exp[i\varphi^o]$ менее точна, нежели $F^c \exp[i\varphi^o]$.

3.4.3. Обработка центросимметричных (ц/с) рефлексов.

Для центросимметричного рефлекса фаза структурного фактора может принимать лишь одно из двух возможных значений

$$\varphi(s) = \begin{cases} \varphi^o(s), & \text{либо} \\ \varphi^o(s) + \pi \end{cases} \quad (3.25)$$

где φ^o – фиксированное для данного типа рефлексов значение. Если модуль такого структурного фактора неизвестен, то записывая структурный фактор в виде

$$F^o(s) \exp[i\varphi^o(s)] = l(s) [\cos \varphi^o(s) + i \sin \varphi^o(s)], \quad (3.26)$$

мы приходим к необходимости определения для него одного вещественного параметра $l(s)$. Естественное стартовое значение для параметра l – нуль.

Ситуация становится более сложной, если модуль для ц/с рефлекса известен. В этом случае

$$\begin{aligned} F^o(s) \exp[i\varphi^o(s)] &= \\ &= \omega(s) F^o(s) [\cos \varphi^o(s) + i \sin \varphi^o(s)], \end{aligned} \quad (3.27)$$

где $\omega(s) = \pm 1$. Минимизация в пространстве дискретных переменных является более сложной задачей, нежели минимизация в "непрерывном" случае. Чтобы избежать этой сложности, мы считали, что в представлении (3.27) для ц/с рефлекса с известным модулем величина $\omega(s)$ может принимать любые вещественные значения, но вводили в минимизируемый критерий (3.17) дополнительные штрафы типа

$$(|\omega(s)| - 1)^2 . \quad (3.28)$$

3.5. Восстановление недостающих структурных факторов.

3.5.1. Проверка на тестах.

В качестве тестового объекта была взята модель белка субтилизина [99], которая была размещена в пространственной ячейке с размерами $73 \times 64 \times 48$ Å в пространственной группе $P2_1 2_1 2_1$. При этом ориентация молекулы была взята произвольно, а положение центра масс выбрано таким образом, чтобы молекулы не налезали друг на друга. По координатам атомов были рассчитаны структурные факторы и рассчитан синтез разрешения 4 Å (Рис.3.5а). По этому синтезу были рассчитаны квазичастоты (отрезок (-0.5, 1.5) был разбит на 30 бинов, использовалась функция $\lambda(t)$ вида (3.18) с $\alpha = 5$).

Для того, чтобы проверить, насколько квазигистограмма чувствительна к изменению ориентации молекулы, был проведен аналогичный расчет для молекулы субтилизина, помещенной в другой ориентации. Введенный выше формулой (3.17) критерий соответствия двух квазигистограмм принял значение 0.1×10^{-4} , что определило предел, до которого имеет смысл опускать значение минимизируемого критерия при поиске лучших значений для неизвестных структурных факторов.

Далее была проимитирована ситуация отсутствия информации о части модулей структурных факторов. Около 17% структурных факторов (352 из 2104) были объявлены неизвестными и была поставлена задача определения их путем минимизации функции (3.17). В качестве набора S_u отсутствующих рефлексов выступал набор рефлексов, не

отснятый по техническим причинам в одном из реальных рентгеновских экспериментов. Множество S_u было, в основном, сосредоточено около оси 1 обратного пространства.

Дальнейшие тесты проводились в двух модификациях. В первой из них предполагалось, что нам известны значения структурных факторов $F^o(s) \exp[i\phi^o(s)]$ для набора S_d рефлексов и известна эталонная квазигистограмма $\{\tilde{v}_k^o\}_{k=1}^K$. Задача заключалась в восстановлении и модулей, и фаз неизвестных структурных факторов. Во второй модификации мы считали, что для $s \in S_u$ неизвестны только фазы, а модули известны и задача состояла в определении неизвестных фаз. В качестве известных значений F^o и ϕ^o в тестах использовались структурные факторы, рассчитанные по атомной модели в первой ориентации, а эталонные квазичастоты определялись по синтезу, отвечающему молекуле во второй ориентации. Такой выбор имитировал использование в качестве эталона гистограмм, отвечающих гомологичным белкам.

Поскольку эталонная гистограмма отвечала "гомологичному" белку, а не той структуре, которую мы пытались восстановить, то точные значения неизвестных структурных факторов не отвечали точному значению минимума критерия (3.17). Поэтому, первый вопрос, на который мы попытались ответить был : "Насколько значения структурных факторов, обеспечивающие минимум функции (3.17), отличаются от точных ?" Для этой цели было проведено 15 циклов минимизации критерия (3.17) методом наискорейшего спуска (в качестве стартовых значений для неизвестных структурных факторов были взяты их точные значения). Результаты минимизации, приведенные в Таблице 3.1, показывают, что

Таблица 3.1. Результаты тестов с субтилизином.

	Тест 1	Тест 2	Тест 3	Тест 4
Число циклов при минимизации	15	10	5	33
Стартовое значение критерия (3.17)	$.7 \times 10^{-5}$	$.3 \times 10^{-2}$	$.8 \times 10^{-5}$	$.4 \times 10^{-2}$
Достигнутое значение критерия (3.17)	$.5 \times 10^{-7}$	$.5 \times 10^{-5}$	$.6 \times 10^{-6}$	$.9 \times 10^{-5}$
Средняя ошибка в фазах (в град.) (182 нц/с рефл.)	7	37	33	33
Число неверно определенных знаков (170 ц/с рефл.)	1	19	19	21
Значение R-фактора ^{a)}	0.06	0.46	0.00	0.02

а) значения R-фактора вычислялись как

$$R = \sum_s | F^o - F^c | / \sum_s | F^c |$$

при этом в сумму включались лишь те рефлексы, для которых модуль структурного фактора мог меняться в процессе минимизации.

замена в критерии (3.17) точной квазигистограммы на квазигистограмму "гомологичного" объекта несущественно влияет на положение точки минимума.

Второй тест был посвящен попытке восстановить как фазы, так и модули структурных факторов с $\mathbf{z} \in S_u$. В качестве варьируемых параметров использовались $f_F(\mathbf{s})$ и $f_I(\mathbf{s})$ для нц/с и $l(\mathbf{s})$ для ц/с рефлексов. В качестве стартовых были взяты нулевые значения. Одно из сечений стартового синтеза Фурье (то есть синтеза, построенного по неполному набору рефлексов) показано на Рис.3.5б. Результат 10 циклов минимизации критерия (3.17) приведен в Таблице 3.1. На Рис.3.5в показан фрагмент синтеза, построенного с восстановленными значениями неизвестных структурных факторов. Мы видим здесь существенный прогресс по сравнению со стартовой картиной.

В третьем и четвертом тестах предполагалось, что для множества S_u модули структурных факторов известны, и проблема состоит лишь в восстановлении значений фаз. Эти тесты различались по способу выбора начальных значений для неизвестных фаз. В тесте 3 в качестве стартовых значений фаз нц/с рефлексов были взяты значения фаз, полученные в тесте 2. Далее эти значения фаз варьировались с целью минимизировать величину (3.17). Для ц/с рефлексов значения фаз, полученные в тесте 2, были зафиксированы. В тесте 4 стартовые значения фаз были выбраны при помощи датчика случайных чисел. В этом тесте варьировались значения параметров $\varphi(\mathbf{s})$ для нц/с и $\omega(\mathbf{s})$ для ц/с рефлексов. При этом стартовые значения $\omega(\mathbf{s})$ были нулевыми. Дополнительные штрафные функции типа (3.28) были введены в минимизируемый критерий (3.17), чтобы привязать значения модулей ц/с

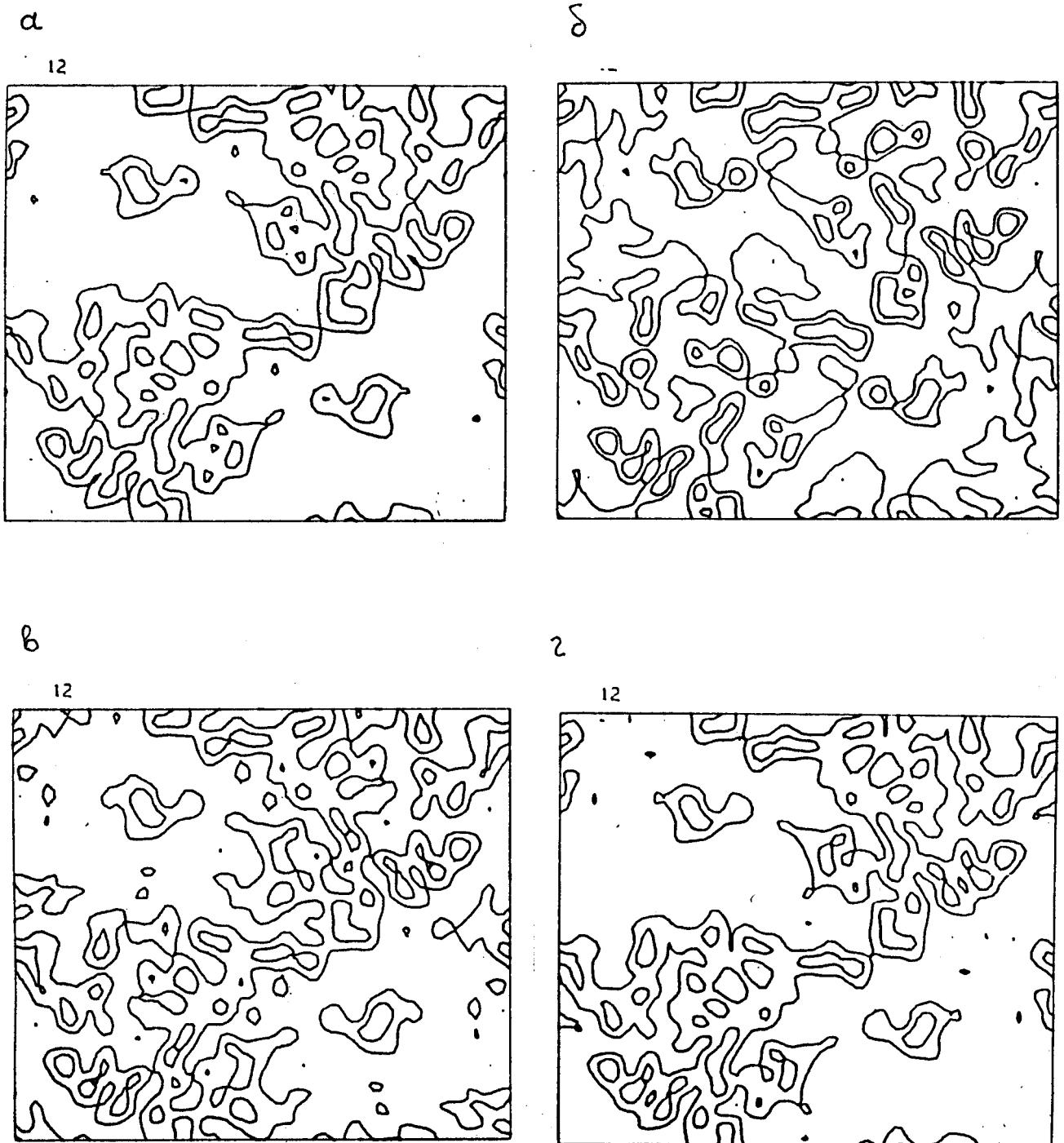


Рис.3.5. Сечение $z = 12/48$ синтезов разрешения 4 \AA для модели субтилизина: а) точный синтез; б) стартовый синтез (около 17% рефлексов удалено из расчета синтеза); в) результат восстановления модулей и фаз удаленных рефлексов; г) результат восстановления фаз (при известных модулях) удаленных рефлексов.

структурных факторов к известным значениям.

Результаты этих тестов сравнимы по достигнутой средней фазовой ошибке около 33° и приведены в Таблице 3.1. Среднее расхождение между фазами, полученными в третьем и четвертом тестах, составило около 28° .

3.5.2. Оценка качества восстановления синтеза.

Данные, приведенные в Таблице 3.1, дают формальную оценку точности восстановления структурных факторов. На практике качество восстановления функции $\rho(\mathbf{r})$ определяется тем, насколько детальную и точную информацию можем мы извлечь из этой функции. Функция распределения электронной плотности $\rho(\mathbf{r})$ используется на разных стадиях рентгеноструктурного исследования для определения положения молекулы в ячейке кристалла, определения хода полипептидной цепи, определения положения боковых групп и локализации отдельных атомов и т.п. Во всех этих случаях в элементарной ячейке выделяется и изучается область вида

$$\Omega = \{ \mathbf{r} : \rho(\mathbf{r}) \geq a \} , \quad (3.29)$$

отвечающая некоторому значению уровня электронной плотности a . Таким образом, качество полученного приближения $\rho^*(\mathbf{r})$ определяется прежде всего тем, насколько точно анализ функции $\rho^*(\mathbf{r})$ позволяет воспроизвести области Ω , отвечающие точному синтезу. Мы введем критерий, характеризующий точность выделения областей Ω следующим образом.

Пусть $\rho(\mathbf{r})$ - точный синтез, а $\rho^*(\mathbf{r})$ - некоторое его приближение. Для каждого значения $t \in (0, 1)$ мы можем подобрать такие значения уровней $a(t)$ и $a^*(t)$, что области

$$\Omega_t = \{ \mathbf{r} : \rho(\mathbf{r}) \geq a(t) \} \quad (3.30)$$

и

$$\Omega_t^o = \{ \mathbf{r} : \rho^o(\mathbf{r}) \geq \alpha^o(t) \} \quad (3.31)$$

имеют одинаковый объем, равный $t|V|$ ($|V|$ - объем элементарной ячейки). Мы можем охарактеризовать точность совпадения областей Ω_t и Ω_t^o , подсчитав объем области, состоящей из точек, принадлежащих области Ω_t , но не попавших в область Ω_t^o (или, что тоже самое, объем области, состоящей из точек, не принадлежащих Ω_t , но включенных в Ω_t^o). Обозначим $M(t)$ объем этой области. Ясно, что области Ω_t и Ω_t^o тем точнее совпадают, чем меньше значение $M(t)$.

Введем нормировку величины $M(t)$ следующим образом. Допустим, что мы выбираем область Ω_t^r объема $t|V|$ совершенно случайно. Тогда "в среднем" в область из точек этой области в Ω_t не попадет объем $(1-t)t|V|$, то есть для случайно выбранной области Ω_t^r мера ее несовпадения с Ω_t будет $M_o(t) = (1-t)t|V|$. Мы введем теперь относительную точность описания функции $\rho(\mathbf{r})$ при помощи функции $\rho^o(\mathbf{r})$ как

$$m(t) = M(t) / [(1-t)t|V|] . \quad (3.32)$$

Величина $1/m(t)$ показывает, во сколько раз точнее позволяет восстановить систему областей Ω_t функция $\rho^o(\mathbf{r})$, нежели случайный выбор этих областей.

Рис.3.6. показывает точность выделения системы областей Ω_t при помощи различных функций $\rho^o(\mathbf{r})$. Кривая А демонстрирует точность выделения при помощи синтеза, построенного с точными модулями и случайными фазами. Мы видим, что такой синтез не несет практически никакой информации о структуре областей Ω_t . Кривая В отражает точность выделения при помощи синтеза, построенного по неполному набору структурных факторов S_d . Из этой кривой

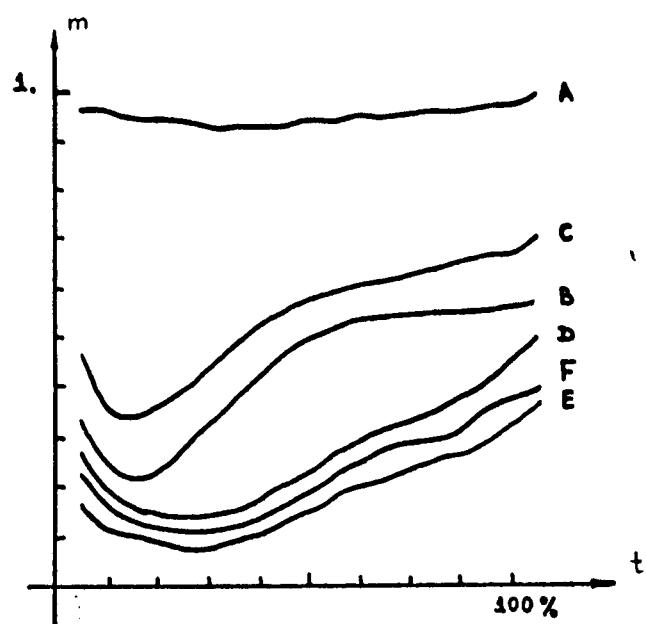


Рис.3.6. Точность выделения областей высокой плотности при помощи различных синтезов

- А - точные модули и случайные фазы;
- В - синтез по неполному набору рефлексов;
- С - точные модули и фазы для "известных" рефлексов, точные модули и случайные фазы для "неизвестных";
- Д - синтез с восстановленными модулями и фазами;
- Е - синтез с восстановленными фазами (старт с нулевых структурных факторов);
- Ф - синтез с восстановленными фазами (старт со случайных значений для неизвестных фаз).

видно, что такой синтез довольно хорошо воспроизводит области, отвечающие высоким значениям электронной плотности (10 – 20% объема ячейки), но гораздо хуже приспособлена для выделения более широких областей. Эти свойства послужили основой процедуры двухшаговой фильтрации изображений, нашедшей полезное применение в белковой кристаллографии ([92], [100]).

Кривая С показывает точность выделения областей Ω_t при помощи синтеза, построенного с точными структурными факторами для $b \in S_d$ и точными модулями и случайными фазами для $b \in S_u$. Из этой кривой видно, что доопределение неизвестных фаз случайными значениями дает худшие результаты, нежели полное исключение таких рефлексов из синтеза.

Кривая D показывает точность выделения областей Ω_t при помощи синтеза, построенного с точными структурными факторами набора S_d и восстановленными из минимизации критерия (3.17) значениями модулей и фаз структурных факторов для $b \in S_u$. Здесь явно виден прогресс. Кривые Е и F позволяют более точно сравнить результаты тестов 3 и 4, описанных выше. Видно, что несколько лучшие результаты дает методика теста 3, то есть варьирование при минимизации криетрия (3.17) сначала комплексных значений неизвестных структурных факторов с последующей фиксацией значений их модулей (в ситуации, когда значения модулей известны).

3.5.3. Восстановление недостающих структурных факторов при исследовании "сухой" формы γ -кристаллина Ш ъ.

Структура белка γ -кристаллина Ш ъ из глазной линзы

теленка изучается в лаборатории д.б.н. Ю.Н.Чиргадзе в Институте белка АН СССР и в лаборатории проф. Т.Бланделла в Бирбек-колледже (Англия). Кристаллы белка принадлежат к пространственной группе $P2_{1}2_{1}2_{1}$, и имеют параметры элементарной ячейки $58.7 \times 69.5 \times 116.9 \text{ \AA}$ [18,19]. Структура γ -кристаллина была уточнена при разрешении 2.5 \AA [103]. Был также собран дифракционный набор разрешением до 1.9 \AA "подсущенных" кристаллов белка [104]. Он характеризовался меньшими размерами ячейки : $57.38 \times 70.13 \times 115.4 \text{ \AA}$. Расхождение в данных для разных модификаций составило по зоне до 2.5 \AA

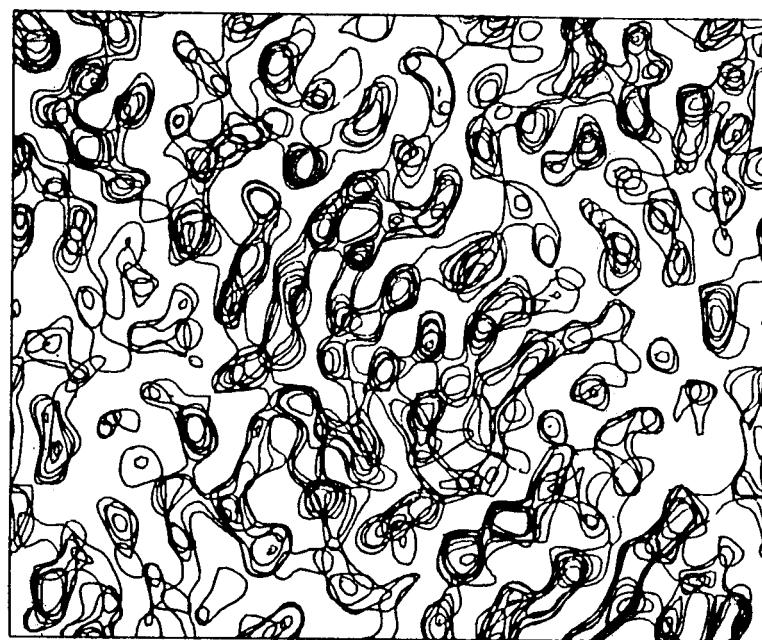
$$R = 2 \frac{\sum_s |F_{\text{wet}} - F_{\text{dry}}|}{\sum_s |F_{\text{wet}} + F_{\text{dry}}|} = 0.255 . \quad (3.33)$$

По техническим причинам в первоначально отснятом наборе, отвечающем "сухой" форме, отсутствовала значительная часть рефлексов (в зоне до 4 \AA отсутствовало 1390 рефлексов из 4224 возможных). Была сделана попытка восстановить утерянные данные, используя информацию о гистограмме синтеза электронной плотности.

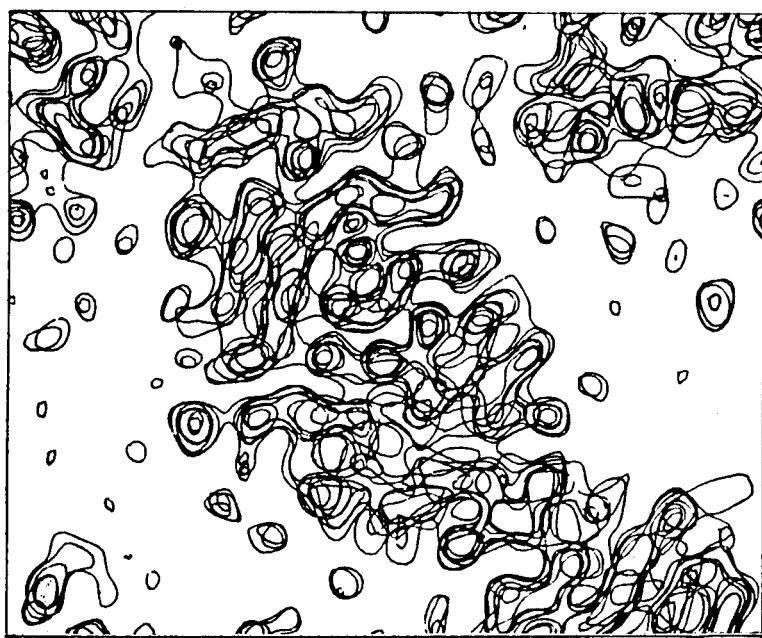
В качестве стартовой точки был выбран синтез разрешения до 4 \AA , построенный по 2852 рефлексам с коэффициентами

$$F_{\text{dry}}(s) \exp[i\varphi_{\text{wet}}(s)] , \quad (3.34)$$

где $F_{\text{dry}}(s)$ – модули структурных факторов второй ("сухой") модификации, $\varphi_{\text{wet}}(s)$ – фазы, рассчитанные по уточненной атомной модели первой модификации. На Рис.3.7 приведено несколько сечений синтеза, рассчитанного с такими значениями структурных факторов. Следует подчеркнуть, что качество синтеза определялось не только отсутствием части необходимых рефлексов, но и некоторыми ошибками в фазах, поскольку они



а



б

Рис. 3.7. Синтез разрешения 4А для γ -кристаллина III β :
а) синтез с коэффициентами (3.34) (1390 рефлексов
отсутствует); б) результат добавления восстановленных
значений.

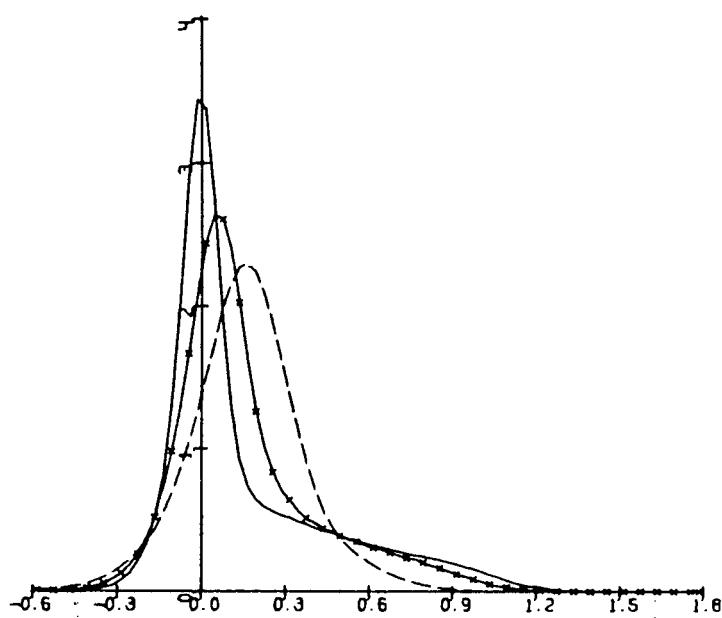


Рис.3.8. Гистограммы синтезов разрешения 4А для
 γ -кристаллина III' :
— — модельная гистограмма;
 $---$ — гистограмма стартового синтеза;
 $-x-x-x-x-$ — гистограмма синтеза с добавленными рефлексами.

отвечали первой модификации, а не второй.

Далее была сделана попытка доопределения неизвестных структурных факторов (и фаз, и модулей), исходя из условия минимума величины (3.17). Теоретические значения эталонных частот были определены по методике, изложенной в разделе 2. Значения эталонных квазичастот, входящих в выражение (3.17), были пересчитаны из значений частот по формуле (3.19). На Рис.3.8 приведены "теоретическая" гистограмма и гистограмма, отвечающая синтезу, рассчитанному с восстановленными значениями структурных факторов. Несколько сечений синтеза с восстановленными структурными факторами приведено на Рис.3.7б.

Глава 4. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГИСТОГРАММ В ЗАДАЧЕ УТОЧНЕНИЯ ЗНАЧЕНИЙ ФАЗ СТРУКТУРНЫХ ФАКТОРОВ.

4.1. Введение

Основная задача этого раздела заключается в том, чтобы установить, какое место занимают процедуры уточнения значений фаз структурных факторов за счет дополнительной информации, поставляемой гистограммой, среди других методов фазового уточнения. Наш анализ будет базироваться на трех характеристиках метода уточнения, которые мы считаем основными:

- а) какую дополнительную информацию об исследуемом объекте мы пытаемся привлечь к работе ?
- б) как эта дополнительная информация представляется математически ?
- в) какая вычислительная процедура применяется для нахождения значений фаз, удовлетворяющих сформулированным математическим ограничениям ?

Оказывается, что широкий класс различных типов дополнительной информации может быть представлен математически как свойство распределения электронной плотности $\rho(r)$ не изменяться под действием некоторого преобразования $\tau[\rho]$. Эти преобразования (свои для каждого из типов дополнительной информации) выписаны ниже.

Свойство $\rho = \tau[\rho]$ эквивалентно системе комплексных уравнений для соответствующих структурных факторов. Существует два наиболее прямых подхода к решению этой системы уравнений :

- а) определить ее решение таким образом, чтобы минимизировать среднеквадратичную погрешность в выполнении уравнений;
- б) отбросив "радиальную" часть уравнений, решать их "фазовую" часть методом последовательных приближений.

Как показал наш анализ, большая часть используемых методов уточнения значений фаз (уточнение по тангенс-формулам, усреднение по некристаллографической симметрии, "метод Wang'a", метод модификации электронной плотности и др.) могут рассматриваться как решение методом последовательных приближений фазовой части уравнений для структурных факторов, отвечающих свойству $\rho = \tau[\rho]$ с надлежащим преобразованием τ .

Оказывается, что свойство функции иметь предписанную гистограмму также может быть сформулировано в виде требования $\rho = \tau[\rho]$, где преобразование τ вычисляется в два этапа:

- а) исходя из имеющегося синтеза $\rho(r)$ и известной эталонной гистограммы, строится специальная функция $\lambda_\rho(t)$ (своя для каждого конкретного синтеза $\rho(r)$) ;
- б) осуществляется преобразование $\rho(r) \rightarrow \lambda_\rho(\rho(r))$.

Итерационное решение фазовой части соответствующих уравнений для структурных факторов может интерпретироваться при этом как принципиальная схема предложенных недавно "Histogram specification" [84] и "Histogram matching" [78] методов. Использованный нами минимизационный метод – подбор значений фаз, приводящих к наиболее правильной гистограмме, является попыткой использовать полную систему уравнений для

структурных факторов.

Проведенный анализ позволяет по-новому взглянуть на широко распространенный метод уточнения значения фаз – метод модификации электронной плотности. Этот метод основан на свойстве искомой функции $\rho(\mathbf{r})$ не изменяться при преобразовании $\rho \rightarrow \lambda(\rho(\mathbf{r}))$ (наиболее популярна при этом функция $\lambda(\rho) = 3\rho^2 - 2\rho^3$). Однако оставалось неясным, какую информацию о синтезах среднего или низкого разрешения несет в себе это свойство. Изучение в модельных ситуациях функций $\lambda_\rho(t)$, восстанавливающих предписанную гистограмму, показало, что функция $3t^2 - 2t^3$ весьма похожа на них. Поэтому метод модификации электронной плотности можно трактовать как упрощенную реализацию "Histogram specification" метода (в которой модифицирующая функция берется постоянной, отражающей основные черты функций, восстанавливающих гистограмму), и информация, "за счет которой" работает метод модификации электронной плотности, есть, по-существу, специфичность формы гистограмм синтезов электронной плотности в кристаллах белков.

4.2. Два подхода к задаче уточнения значений фаз структурных факторов.

4.2.1. Представление дополнительной информации об объекте в виде уравнения $\rho = \tau[\rho]$.

Во многих случаях некоторая дополнительная информация об исследуемом объекте может быть выражена математически как свойство функции распределения электронной плотности не изменяться при определенном преобразовании этой функции :

$$\rho(\mathbf{r}) = \tau[\rho](\mathbf{r}) \quad \text{при всех } \mathbf{r}, \quad (4.1)$$

где τ – специальным образом заданное преобразование функций. Примеры таких преобразований даны ниже.

Разделенные атомы.

Сейр [105] получил уравнения для структурных факторов, опираясь на гипотезу о том, что распределение электронной плотности $\rho(\mathbf{r})$ можно считать состоящим из вкладов одинаковых, полностью разделенных сферически-симметричных атомов :

$$\rho(\mathbf{r}) = \sum_j \rho_0(|\mathbf{r} - \mathbf{r}_j|) , \quad (4.2)$$

где суммирование идет по всем атомам исследуемой структуры, \mathbf{r}_j – положения центров атомов, функция $\rho_0(r)$ описывает радиальное распределение плотности в сферически-симметричном атоме, помещенном в начало координат и

$$\rho(|\mathbf{r}-\mathbf{r}_j|)\rho(|\mathbf{r}-\mathbf{r}_k|) = 0 \quad \text{для всех } \mathbf{r} \text{ при } j \neq k. \quad (4.3)$$

Следуя его работе, можно показать, что при справедливости этой гипотезы для любой функции $\lambda(t)$ такой, что $\lambda(0)=0$, выполнены равенства

$$\begin{aligned} F(s) \exp[i\phi(s)] &= \{ f_0(s)/f_\lambda(s) \} \mathcal{F}_s \{ \lambda(\rho(r)) \} = \\ &= \mathcal{F}_s \{ a_\lambda(r) * \lambda(\rho(r)) \} , \end{aligned} \quad (4.4)$$

то есть функция $\rho(\mathbf{r})$ удовлетворяет соотношению

$$\rho = a_\lambda * \lambda(\rho) = \tau[\rho] , \quad (4.5)$$

где преобразование τ в данном случае есть преобразование, переводящее произвольную функцию в свертку этой функции с заданной функцией $a_\lambda(r)$. В выписанных формулах * обозначает операцию свертки,

$$f_0(s) = \frac{2}{s} \int_0^\infty r \rho_0(r) \sin(2\pi sr) dr , \quad (4.6)$$

$$f_\lambda(s) = \frac{2}{s} \int_0^\infty r \lambda(\rho_o(r)) \sin(2\pi sr) dr , \quad (4.7)$$

$$a_\lambda(s) = \frac{2}{r} \int_0^\infty s [f_o(s)/f_\lambda(s)] \sin(2\pi sr) dr \quad (4.8)$$

и $\mathcal{F}_s\{v\}$ обозначает структурный фактор с индексами s , отвечающий функции $v(r)$:

$$\mathcal{F}_s\{v(r)\} = \int_V v(r) e^{2\pi i(s.r)} dv_r , \quad (4.9)$$

$$\mathcal{F}_s\{\rho(r)\} = F(s) \exp[i\varphi(s)] . \quad (4.10)$$

Отметим, что функция $a_\lambda(r)$, участвующая в определении преобразования τ , не зависит от расположения атомов. Уравнения Сейра были получены при $\lambda(t) = t^2$.

Локальная (некристаллографическая) симметрия.

Распространенным явлением для кристаллов биологических макромолекул является наличие локальной ("некристаллографической") симметрии. Это означает, что для точек из некоторой ограниченной области Ω имеет место равенство

$$\rho(Gr+t) = \rho(r) , \quad r \in \Omega , \quad (4.11)$$

с некоторой матрицей вращения G и вектором трансляции t . Подчеркнем, что в отличие от кристаллографической симметрии, где равенство типа (4.11) имеет место для всех точек прямого пространства, в случае локальной симметрии это равенство обязано выполняться лишь для точек заданной области Ω . Поэтому, чтобы определить локальную симметрию, необходимо указать не только матрицу G и вектор t , но и область Ω , в которой эта симметрия действует.

Свойство (4.11) эквивалентно равенству (4.1) с преобразованием $\tau[\rho]$, заданным формулой:

$$\tau[\rho](\mathbf{r}) = \begin{cases} \rho(\mathbf{G}\mathbf{r}+\mathbf{t}) & , \quad \mathbf{r} \in \Omega , \\ \rho(\mathbf{r}) & \text{для остальных точек.} \end{cases} \quad (4.12)$$

Если рассматривать случай, когда Ω является областью, занятой одной молекулой, то преобразование (4.12) означает "перенос" распределения плотности в области одной из молекул в область, занятую симметрично-связанной молекулой.

Мы можем выбрать преобразование (4.1) в более симметричном виде, заметив, что свойство (4.11) эквивалентно совокупности равенств

$$\begin{cases} \rho(\mathbf{r}) = [\rho(\mathbf{r}) + \rho(\mathbf{G}\mathbf{r}+\mathbf{t})] / 2 , \\ \rho(\mathbf{G}\mathbf{r}+\mathbf{t}) = [\rho(\mathbf{r}) + \rho(\mathbf{G}\mathbf{r}+\mathbf{t})] / 2 , \quad \mathbf{r} \in \Omega , \end{cases} \quad (4.13)$$

то есть равенству (4.1) с преобразованием

$$\tau[\rho](\mathbf{r}) = \begin{cases} [\rho(\mathbf{r}) + \rho(\mathbf{G}\mathbf{r}+\mathbf{t})] / 2 , & \mathbf{r} \in \Omega , \\ [\rho(\mathbf{G}^{-1}(\mathbf{r}-\mathbf{t})) + \rho(\mathbf{r})] / 2 , & \mathbf{r} \in \mathbf{G}\Omega + \mathbf{t} , \\ \rho(\mathbf{r}) & \text{для остальных точек .} \end{cases} \quad (4.14)$$

Это преобразование отвечает "заполнению" области молекулы плотностью, усредненной по симметрично-связанным молекулам.

В более общем виде уравнение типа (4.1) для случая локальной симметрии можно получить, взяв преобразование $\tau[\rho]$ в виде

$$\tau[\rho](\mathbf{r}) = \begin{cases} \lambda(\rho(\mathbf{r}), \rho(\mathbf{G}\mathbf{r}+\mathbf{t})) , & \mathbf{r} \in \Omega , \\ \lambda(\rho(\mathbf{G}^{-1}(\mathbf{r}-\mathbf{t})), \rho(\mathbf{r})) , & \mathbf{r} \in \mathbf{G}\Omega + \mathbf{t} , \\ \rho(\mathbf{r}) & \text{для остальных точек .} \end{cases} \quad (4.15)$$

с произвольной функцией $\lambda(x, y)$, такой, что $\lambda(x, x) = x$ (в преобразовании (4.14) $\lambda(x, y) = (x+y)/2$). Использование функций $\lambda(x, y)$ более общего вида, например,

$$\lambda(x, y) = w_1 x + w_2 y , \quad (\text{с } w_1 + w_2 = 1) \quad (4.16)$$

позволяет осуществлять "взвешенное" усреднение электронной плотности по симметрично-связанным областям.

Учет известной локализации молекулы.

Если установлено, что молекула занимает область Ω в элементарной ячейке, то можно приближенно считать, что электронная плотность вне молекулы постоянна и равна, например, средней плотности растворителя, либо просто равна нулю. Эта гипотеза эквивалентна уравнению (4.1) с

$$\tau[\rho](\mathbf{r}) = \begin{cases} \rho(\mathbf{r}) & , \quad \mathbf{r} \in \Omega , \\ \rho_0 & \text{для остальных точек} . \end{cases} \quad (4.17)$$

Неотрицательность $\rho(\mathbf{r})$.

Свойство неотрицательности распределения $\rho(\mathbf{r})$ эквивалентно уравнению (4.1) с

$$\tau[\rho](\mathbf{r}) = \begin{cases} \rho(\mathbf{r}) & \text{если } \rho(\mathbf{r}) \geq 0 , \\ 0 & \text{если } \rho(\mathbf{r}) < 0 . \end{cases} \quad (4.18)$$

Функции с конечным набором значений.

В ряде случаев можно приближенно считать, что функция $\rho(\mathbf{r})$ может принимать лишь конечный набор значений, например (после соответствующего шкалирования),

$$\rho(\mathbf{r}) = \{ 0 \text{ или } 1 \} . \quad (4.19)$$

Пусть $\lambda(t)$ произвольная функция такая, что $\lambda(t)=t$ только при $t=0$ или при $t=1$. В таком случае нетрудно видеть, что условие (4.19) эквивалентно уравнению (4.1) с

$$\tau[\rho](\mathbf{r}) = \lambda(\rho(\mathbf{r})) . \quad (4.20)$$

В более общем случае, свойство функции $\rho(\mathbf{r})$ принимать конечное число значений p_1, p_2, \dots, p_k эквивалентно уравнению (4.1) с преобразованием $\tau[\rho]$, заданным равенством (4.20) с такой функцией $\lambda(t)$, что $\lambda(t)=t$ лишь при $t=p_1, p_2, \dots, p_k$.

4.2.2. Преобразование уравнения $\rho = \tau[\rho]$ в систему уравнений для структурных факторов.

Итак, уравнение (4.1) способно формализовать широкий класс дополнительных свойств искомого распределения электронной плотности $\rho(\mathbf{r})$. Уравнение (4.1) эквивалентно системе уравнений для структурных факторов функции $\rho(\mathbf{r})$:

$$\begin{aligned} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi(\mathbf{s})} &= \\ &= \mathcal{F}_{\mathbf{s}} \left\{ \tau \left[\frac{1}{|\mathbf{v}|} \sum_{\mathbf{u}} F(\mathbf{u}) e^{i\varphi(\mathbf{u})} e^{-2\pi i(\mathbf{u}, \mathbf{r})} \right] \right\}, \quad \mathbf{s} \in \mathcal{R}' . \end{aligned} \quad (4.21)$$

Здесь \mathcal{R}' – решетка обратного пространства, $\mathcal{F}_{\mathbf{s}} \{ \mathbf{v} \}$ обозначает структурный фактор с индексами \mathbf{s} , отвечающий функции $v(\mathbf{r})$ (см. (4.9)-(4.10)). Считая модули структурных факторов $\{F(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$ известными из рентгеновского эксперимента, мы можем рассматривать систему уравнений (4.21) как систему уравнений для определения или уточнения фаз $\{\varphi(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$. При этом каждое из комплексных уравнений (4.21) эквивалентно двум вещественным уравнениям: "радиальной" части

$$F(\mathbf{s}) = \left| \mathcal{F}_{\mathbf{s}} \left\{ \tau \left[\frac{1}{|\mathbf{v}|} \sum_{\mathbf{u}} F(\mathbf{u}) e^{i\varphi(\mathbf{u})} e^{-2\pi i(\mathbf{u}, \mathbf{r})} \right] \right\} \right| \quad (4.22)$$

и "фазовой" части

$$\varphi(\mathbf{s}) = \arg \left\{ \mathcal{F}_{\mathbf{s}} \left\{ \tau \left[\frac{1}{|\mathbf{v}|} \sum_{\mathbf{u}} F(\mathbf{u}) e^{i\varphi(\mathbf{u})} e^{-2\pi i(\mathbf{u}, \mathbf{r})} \right] \right\} \right\} \quad (4.23)$$

(здесь $|z|$ – модуль и $\arg\{z\}$ – фаза комплексного числа z).

4.2.3. Процедура итерационного уточнения фаз структурных факторов.

Основой большого набора методов уточнения значений фаз структурных факторов является итерационная процедура решения

фазовой части уравнений (4.21). Радиальная часть (4.22) при этом просто игнорируется, а для нахождения фаз решается методом последовательных приближений система уравнений (4.23). Более подробно, процедура имеет следующий вид.

Пусть у нас имеются приближенные значения $\{\varphi^k(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$. Для построения следующего приближения :

а) строится синтез Фурье с текущими значениями фаз $\{\varphi^k(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$ и известными значениями модулей $\{F(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$ структурных факторов

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{|V|} \sum_{\mathbf{s}} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi^k(\mathbf{s})} e^{-2\pi i(\mathbf{s}, \mathbf{r})} ; \quad (4.24)$$

б) осуществляется преобразование функции $\rho(\mathbf{r})$

$$\rho(\mathbf{r}) \rightarrow \tau[\rho](\mathbf{r}) ; \quad (4.25)$$

в) рассчитываются структурные факторы преобразованного распределения электронной плотности

$$g(\mathbf{s}) e^{i\varphi^k(\mathbf{s})} = \int_V \tau[\rho](\mathbf{r}) e^{2\pi i(\mathbf{s}, \mathbf{r})} dV_r , \quad (4.26)$$

и их фазы берутся в качестве следующего приближения к искомым фазам

$$\varphi^{k+1}(\mathbf{s}) = \psi(\mathbf{s}) . \quad (4.27)$$

Далее процедура повторяется.

Огромное количество работ по уточнению значений фаз структурных факторов основано, явно или неявно, именно на этой итерационной процедуре с различными преобразованиями $\tau[\rho]$, вводящими ту или иную дополнительную информацию об исследуемом объекте.

Используя итерационную процедуру с преобразование $\tau[\rho]$,

определенным равенством (4.5) с $\lambda(t)=t^2$, мы получаем уточнение по "тангенс-формулѣ". В самом дѣле, из (4.26)–(4.27) и свойства преобразования Фурье переводить произведение функций в свертку их Фурье-образов, имеем

$$\begin{aligned} \operatorname{tg} \varphi^{k+1}(s) &= \operatorname{Im}[\mathcal{F}_s\{\rho^2(r)\}] / \operatorname{Re}[\mathcal{F}_s\{\rho^2(r)\}] = \\ &= \frac{\sum_u F(s-u)F(u) \sin(\varphi^k(s-u)+\varphi^k(u))}{\sum_u F(s-u)F(u) \cos(\varphi^k(s-u)+\varphi^k(u))}. \end{aligned} \quad (4.28)$$

Использование неквадратичных функций $\lambda(t)$ дает класс методов, фигурирующих под названием методов "модификации электронной плотности".

Используя процедуру (4.24)–(4.27) с преобразованием (4.14), мы получаем весьма "мощную" процедуру усреднения по некристаллографической симметрии в обратном пространстве.

Использование итерационной процедуры с преобразованием (4.17) является составной частью популярного нынче, так называемого, "метода Wang'a". (Преобразование (4.18) также используется, неявно, в этом методе).

Проведенное выше исследование показывает, что общей чертой упомянутых методов улучшения фаз является

а) игнорирование радиальной части уравнений (4.21); как следствие, полученные итерационным решением уравнений (4.23) значения фаз могут не удовлетворять уравнениям (4.21);

б) метод простой итерации, применяемый для решения уравнений (4.22), может не сходиться вообще или сходить к постороннему решению.

Поскольку не существует математически строгих доказательств сходимости этих процедур, в каждой конкретной попытке их применения надо отдавать себе отчет в том, что

попытка может и не привести к улучшению карт распределения электронной плотности в исследуемом объекте.

Отдельной проблемой является выбор начального приближения $\{\phi^0(s)\}_s$ в итерационной процедуре.

4.2.4. Минимизационный подход к проблеме уточнения фаз структурных факторов.

Альтернативой итерационному решению фазовой части системы (4.21) является попытка решения полной системы путем минимизации невязки. Подход заключается в поиске таких значений фаз $\{\phi(s)\}_s$, которые минимизируют величину

$$Q = \sum_s | F(s) e^{i\phi(s)} - \tau_s \{ \tau [\frac{1}{|\nabla|} \sum_u F(u) e^{i\phi(u)} e^{-2\pi i(u, r)}] \}|^2. \quad (4.29)$$

Достоинствами такого подхода являются использование для уточнения значений фаз полной системы уравнений (4.21) и возможность легко объединять различные источники информации. Такое объединение достигается минимизацией составного функционала, отдельные части которого имеют вид (4.29) и "отвечают" за разную дополнительную информацию об изучаемом объекте. В частности, может быть учтена исходная информация о фазах структурных факторов, которая обычно имеет вид распределений вероятностей значений $P_s(\phi)$ для каждой из фаз. Представляя распределение вероятностей в унифицированном виде [106]

$$P_s(\phi) \sim \exp\{ A_s \cos \phi + B_s \sin \phi + C_s \cos 2\phi + D_s \sin 2\phi \}, \quad (4.30)$$

мы можем ввести в процедуру уточнения значений фаз эту информацию, добавив в минимизируемый критерий добавочное слагаемое [97]

$$-\sum_s \{ A_s \cos \varphi(s) + B_s \sin \varphi(s) + C_s \cos 2\varphi(s) + D_s \sin 2\varphi(s) \}. \quad (4.31)$$

Минимизационный подход к решению полной системы уравнений (4.21) (в частном случае преобразования $\tau[\rho]$ вида (4.5) с $\lambda(t)=t^2$) был предложен в работах [107-109]. Общий подход к проблеме и вопрос о построении алгоритма минимизации рассмотрен в [93], [98].

4.3. Уточнение фаз структурных факторов при помощи гистограмм синтезов Фурье.

4.3.1. Минимизационный подход.

В ситуации, когда нам известна гистограмма, которой должен обладать синтез Фурье, построенный с "правильными" значениями фаз, мы можем применить к задаче уточнения фаз тот же подход, что и к задаче восстановления недостающих структурных факторов, разобранный в разделе 3. В этом случае задача уточнения значений фаз формулируется как задача поиска минимума функционала

$$\tilde{Q} = \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K \frac{(\tilde{\nu}_k^o - \tilde{\nu}_k^o)^2}{\tilde{\nu}_k^o}, \quad (4.32)$$

где $\{\tilde{\nu}_k^o\}_k$ – эталонные квазичастоты, $\{\tilde{\nu}_k^o\}_k$ – квазичастоты, вычисленные по пробным значениям фаз .

4.3.2. "Histogram specification" и "Histogram matching" методы.

Мы покажем сейчас, как свойство функции иметь предписанную гистограмму $\nu^o(t)$ может быть представлено в виде (4.1) и покажем, что предложенные недавно методы

фазового уточнения "Histogram specification" [84] и "Histogram matching" [78] есть не что иное, как итерационное решение фазовой части соответствующих уравнений (4.21).

Преобразование, восстанавливающее гистограмму.

Пусть $\rho(\mathbf{r})$ – некоторая функция, определенная для точек элементарной ячейки, и $v(t)$ – ее гистограмма :

$$v(t) = \frac{I}{|V|} \frac{d}{dt} \text{mes}\{\mathbf{r} : \rho(\mathbf{r}) \leq t\} . \quad (4.33)$$

Пусть эта гистограмма не совпадает с эталонной гистограммой $v^o(t)$. Если мы хотим преобразовать функцию $\rho(\mathbf{r})$ так, чтобы преобразованная функция $\rho^m(\mathbf{r})$ имела предписанную гистограмму $v^o(t)$, то можно, конечно, найти много таких преобразований. Мы потребуем дополнительно, чтобы это преобразование сохраняло "структурную информацию", содержащуюся в $\rho(\mathbf{r})$. Более точно, мы хотим найти такое преобразование $\tau: \rho \rightarrow \rho^m$, что

$$a) \quad \frac{I}{|V|} \frac{d}{dt} \text{mes}\{\mathbf{r}: \rho^m(\mathbf{r}) \leq t\} = \tau[\rho](\mathbf{r}) \leq t = v^o(t), \quad (4.34)$$

$$\text{б) если для двух точек } \mathbf{r}_1 \text{ и } \mathbf{r}_2 \text{ в элементарной ячейке } \rho(\mathbf{r}_1) > \rho(\mathbf{r}_2), \text{ то } \rho^m(\mathbf{r}_1) > \rho^m(\mathbf{r}_2), \text{ и наоборот, если } \rho^m(\mathbf{r}_1) > \rho^m(\mathbf{r}_2), \text{ то значит} \quad (4.35)$$

было $\rho(\mathbf{r}_1) > \rho(\mathbf{r}_2)$.

Условие б) означает, что преобразование τ не деформирует поверхности уровня функции ρ . В частности, локальные максимумы функции $\rho(\mathbf{r})$ останутся максимумами функции $\rho^m(\mathbf{r})$, хотя значения в этих максимумах изменятся. Мы будем называть преобразование τ , обладающее свойствами а) и б), "нелинейным растяжением, восстанавливающим гистограмму" $v^o(t)$ (НРВГ).

Построение нелинейного растяжения, восстанавливающего гистограмму (НРВГ).

Из условия монотонности б) следует, что значение $\rho^m(r)$ зависит только от величины $\rho(r)$ и не зависит от того, в какой точке r оно рассматривается. Это означает, что преобразование заданной функции $\rho(r)$ имеет вид :

$$\tau : \rho(r) \rightarrow \rho^m(r) = \lambda_\rho(\rho(r)) , \quad (4.36)$$

где $\lambda_\rho(t)$ – функция вещественного переменного t . При этом для разных функций $\rho(r)$ нелинейные растяжения $\lambda_\rho(t)$ будут различны. В силу условия (4.35) функция $\lambda_\rho(t)$ должна монотонно возрастать на отрезке

$$\rho_{\min} = \min_r \rho(r) \leq t \leq \max_r \rho(r) = \rho_{\max} . \quad (4.37)$$

Для того, чтобы имело место свойство (4.34), необходимо, чтобы $\lambda_\rho(t)$ была такова, что при всех t

$$\frac{1}{|V|} \operatorname{mes}\{r : \lambda_\rho(\rho(r)) \leq t\} = N^o(t) = \int_{-\infty}^t v^o(\tau) d\tau . \quad (4.38)$$

На самом деле, для того, чтобы выполнять преобразование (4.36), нам надо знать функцию $\lambda_\rho(t)$ только на отрезке $[\rho_{\min}, \rho_{\max}]$. На этом отрезке $\lambda_\rho(t)$ монотонна, поэтому условие (4.38) эквивалентно тому, что при $\rho_{\min} \leq t \leq \rho_{\max}$

$$\begin{aligned} N_\rho(t) &= \frac{1}{|V|} \operatorname{mes}\{r : \rho(r) \leq t\} = \\ &= \frac{1}{|V|} \operatorname{mes}\{r : \lambda_\rho(\rho(r)) \leq \underbrace{t}_{\lambda_\rho(t)}\} = N^o(\lambda_\rho(t)) . \end{aligned} \quad (4.39)$$

Таким образом, функция $\lambda_\rho(t)$ в (4.36) должна удовлетворять уравнению

$$N^o(\lambda_\rho(t)) = N_\rho(t) , \quad (\rho_{\min} \leq t \leq \rho_{\max}) , \quad (4.40)$$

где $N^o(t)$ – априорно заданная эталонная кумулятивная функция

(1.4), а $N(t)$ – кумулятивная функция, вычисляемая по преобразуемой функции $\rho(r)$.

Поскольку функция $N^o(t)$ возрастает строго монотонно при $0 < N^o(t) < 1$ (она не может иметь здесь отрезков постоянства, так как отвечает конечному ряду Фурье), то при каждом $t \in (\rho_{\min}, \rho_{\max})$ уравнение (4.40) имеет единственное решение. Таким образом, модифицированная функция, обладающая свойствами (4.34)-(4.35), имеет вид (4.36), где модифицирующая функция $\lambda_\rho(t)$ (своя для каждого из модифицируемых распределений $\rho(r)$) определяется на отрезке $[\rho_{\min}, \rho_{\max}]$ однозначно равенством (4.40). Иными словами, преобразование (4.36) заданного распределения $\rho(r)$ осуществляется в три этапа :

а) для функции $\rho(r)$ вычисляется отвечающая ей кумулятивная функция

$$N_\rho(t) = \frac{1}{|V|} \operatorname{mes}\{r: \rho(r) \leq t\} ; \quad (4.41)$$

б) находится индивидуальная модифицирующая функция $\lambda_\rho(t)$ из уравнения

$$N^o(\lambda_\rho) = N_\rho(t) ; \quad (4.42)$$

в) осуществляется модификация

$$\rho^m(r) = \tau[\rho](r) = \lambda_\rho(\rho(r)) . \quad (4.43)$$

Подчеркнем, что в отличие от стандартного метода модификации электронной плотности, где модифицирующая функция $\lambda(t)$ в (4.20) одна и та же для всех модифицируемых распределений $\rho(r)$, здесь подбирается своя модифицирующая функция $\lambda_\rho(t)$ для каждого из модифицируемых распределений.

Представление ограничений, налагаемых гистограммой в виде уравнения $\rho = \tau[\rho]$.

Пусть $\tau[\rho]$ – преобразование, определенное равенствами (4.41)–(4.43). Пусть $\varphi^o(s)$ – точные значения фаз, то есть фазы, приводящие вместе с экспериментально определенными значениями модулей $\{F^o(s)\}$ к синтезу $\rho^o(r)$, обладающему "правильной" гистограммой $v^o(t)$ (а следовательно, и правильной кумулятивной функцией $N^o(t)$). Ясно, что преобразование $\tau[\rho]$ не меняет функцию $\rho^o(r)$, так как у нее и так нужная гистограмма:

$$\tau[\rho^o] = \rho^o \quad . \quad (4.44)$$

С другой стороны, если функция удовлетворяет условию (4.44), то из (4.43) следует, что для нее $\lambda_\rho(t) = t$, а значит, в силу (4.42), $N^o(t) = N_\rho(t)$, то есть она обладает правильной гистограммой. Это означает, что требования:

а) "Функция $\rho(r)$ имеет гистограмму $v(t)$ "

и

б) "функция $\rho(r)$ обладает свойством $\tau[\rho] = \rho$, где τ – преобразование, определенное равенствами (4.41)–(4.43)", эквивалентны.

Таким образом, свойство функции иметь предписанную гистограмму также может быть описано математически в виде требования $\tau[\rho] = \rho$.

Построение итерационного процесса уточнения значений фаз.

В соответствии с общей схемой, изложенной в разделе 4.2.3., при наличии эталонной гистограммы для уточнения значений фаз можно попытаться применить следующую итерационную

процедуру.

Пусть у нас имеются приближенные значения $\{\varphi^k(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$ и пусть $N^o(t)$ – эталонная кумулятивная функция, связанная с эталонной гистограммой равенством

$$N^o(t) = \int_{-\infty}^t v^o(x) dx . \quad (4.45)$$

Для построения следующего приближения

а) строится синтез Фурье с текущими значениями фаз $\{\varphi^k(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$ и известными значениями модулей $\{F(\mathbf{s})\}_{\mathbf{s}}$ структурных факторов

$$\rho(\mathbf{r}) = \frac{1}{|V|} \sum_{\mathbf{s}} F(\mathbf{s}) e^{i\varphi^k(\mathbf{s})} e^{-2\pi i(\mathbf{s}, \mathbf{r})} ; \quad (4.46)$$

б) рассчитывается кумулятивная функция $N_\rho(t)$, соответствующая этому синтезу;

в) из уравнения (4.42) определяется модифицирующая функция $\lambda_\rho(t)$;

г) осуществляется преобразование функции $\rho(\mathbf{r})$

$$\rho(\mathbf{r}) \rightarrow \tau[\rho](\mathbf{r}) = \lambda_\rho(\rho(\mathbf{r})) ; \quad (4.47)$$

д) рассчитываются структурные факторы преобразованного распределения электронной плотности

$$g(\mathbf{s}) e^{i\psi(\mathbf{s})} = \int_V \lambda_\rho(\rho(\mathbf{r})) e^{2\pi i(\mathbf{s}, \mathbf{r})} dV_r \quad (4.48)$$

и их фазы берутся в качестве следующего приближения к искомым фазам

$$\varphi^{k+1}(\mathbf{s}) = \psi(\mathbf{s}) . \quad (4.49)$$

Эта итерационная процедура совпадает, в основных частях, с методами уточнения значений фаз, изложенными в работах [84], [78] и названным авторами соответственно

"Histogram specification" и "Histogram matching". Таким образом, указанные методы представляют из себя не что иное, как итерационное решение фазовой части системы уравнений для структурных факторов (4.2I), и к ним относятся все замечания, сделанные в конце раздела 4.2.3.

4.3.3. "Density modification" метод.

Вынесенный в заголовок раздела метод является одним из старейших методов уточнения значений фаз. Он представляет из себя изложенную в разделе 4.2.3 процедуру итерационного уточнения фаз, отвечающую свойству функции $\rho(\mathbf{r})$ не изменяться при преобразовании

$$\rho(\mathbf{r}) \rightarrow a_\lambda * \rho(\mathbf{r}) , \quad (4.50)$$

где функция $a_\lambda(\mathbf{r})$ определена равенствами (4.6)-(4.8), или не изменяться при преобразовании

$$\rho(\mathbf{r}) \rightarrow \lambda(\rho(\mathbf{r})) \quad (4.51)$$

(оба последних преобразования дают в силу равенства (4.4) одну и ту же фазовую часть уравнений (4.2I)).

Этот метод использовался неоднократно [28-58], и то, что он продолжает использоваться, означает, по-видимому, что он приводит к улучшению интерпретируемости карт распределения электронной плотности. В то же время вопрос: "Почему этот метод работает? Какую дополнительную информацию об объекте вносим мы в работу?" – оставался до последнего времени без удовлетворительного ответа. Преобразование (4.50) было выведено нами в разделе 4.2.I как следствие гипотезы о разделенных атомах. При работе при среднем и низком разрешении эта гипотеза ни в коей мере не может считаться обоснованной. Преобразование (4.51) было

получено нами как следствие свойства функций распределения электронной плотности принимать лишь конечное число значений. Однако из Рис. I.2 можно видеть, что этим свойством синтезы электронной плотности для белков не обладают ни при каком разрешении. Изложенная в разделе 4.3.2 процедура итерационного уточнения значений фаз за счет привязки к известной гистограмме дает возможность по-новому взглянуть на "движущие пружины" метода модификации электронной плотности.

Итерационная процедура (4.46)–(4.49) отличается от "стандартного" метода модификации электронной плотности прежде всего тем, что в ней модифицирующая функция $\lambda_\rho(t)$ меняется от цикла к циклу и зависит от преобразуемого синтеза "в целом". В стандартной же процедуре метода модификации электронной плотности модифицирующая функция $\lambda(t)$ если и меняется, то это изменение не меняет ее формы и связано по-существу с "перешкаливанием синтеза", например, используется функция вида

$$\lambda(\rho) = \begin{cases} 3(\rho/\rho^{\max})^2 - 2(\rho/\rho^{\max})^3 & \text{для } \rho \geq 0, \\ 0 & \text{для } \rho < 0. \end{cases} \quad (4.52)$$

Эта функция, строго говоря, меняется от цикла к циклу, поскольку меняется величина ρ^{\max} , но "форма" кривой $\lambda(\rho)$ остается неизменной.

Чтобы установить связь между модифицирующими функциями сравниваемых методов, рассмотрим предельный случай, когда в качестве стартового синтеза выступает синтез (разрешения 4A), построенный с точными значениями модулей структурных факторов и случайными фазами. На Рис. 4.I приведена гистограмма, отвечающая такому синтезу, и гистограмма,

отвечающая точному синтезу. На Рис.4.2 показаны соответствующие кумулятивные функции и схема метода вычисления модифицирующей функции $\lambda_p(t)$. Сама модифицирующая функция $\lambda_p(t)$ показана на Рис.4.3. Там же показан график функции (4.52).

Из Рис.4.3 видно, что основные черты преобразования, восстанавливающего гистограмму, при наличии больших ошибок в преобразуемом синтезе, следующие :

- а) подавление малых значений электронной плотности (участок BC);
- б) усиление больших значений электронной плотности (участок CD).

Участки AB и DE на графике $\lambda_p(t)$ могут присутствовать или отсутствовать в зависимости от взаимного соотношения величин ρ_{min} и ρ_{max} для преобразуемого и точного синтезов.

Нетрудно видеть, что центральная часть графика на Рис.4.3 весьма похожа на график функции $3t^2 - 2t^3$. Таким образом, модификация типа (4.52) функции распределения электронной плотности при больших ошибках в модифицируемой функции может рассматриваться как приближенное вычисление преобразования, восстанавливающего гистограмму. Тем самым мы можем считать, что и метод модификации электронной плотности основывается в неявном виде на специфичности формы гистограммы для кристаллов биологических макромолекул. Отличие от "Histogram specification" и "Histogram matching" методов состоит в том, что здесь модифицирующая функция не восстанавливает гистограмму в точности, а лишь передает основные тенденции необходимых изменений синтеза.

При малых ошибках в фазах структурных факторов (и,

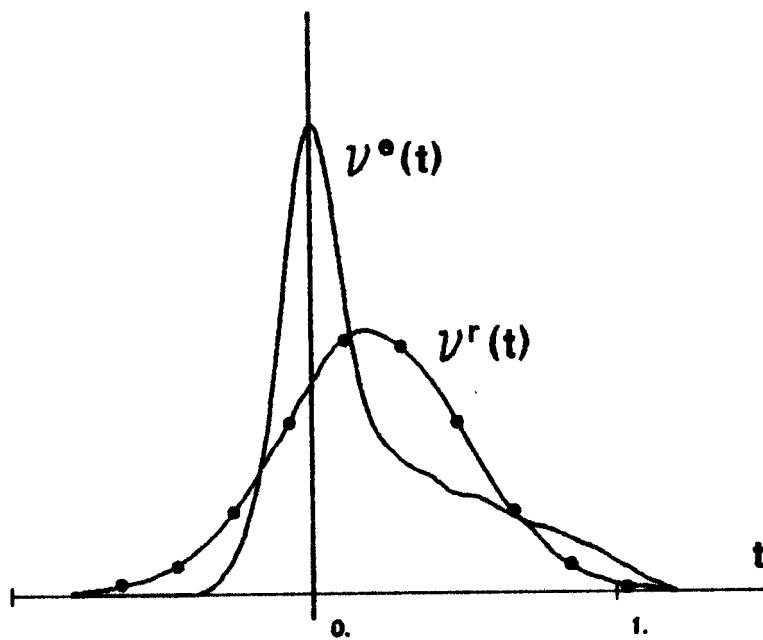


Рис.4.1. Гистограммы синтезов разрешения 4A для субтилизина : — точные модули и фазы;
---·---·---·---·--- точные модули, случайные фазы.

$$N_p(\lambda_p) = N^o(t)$$

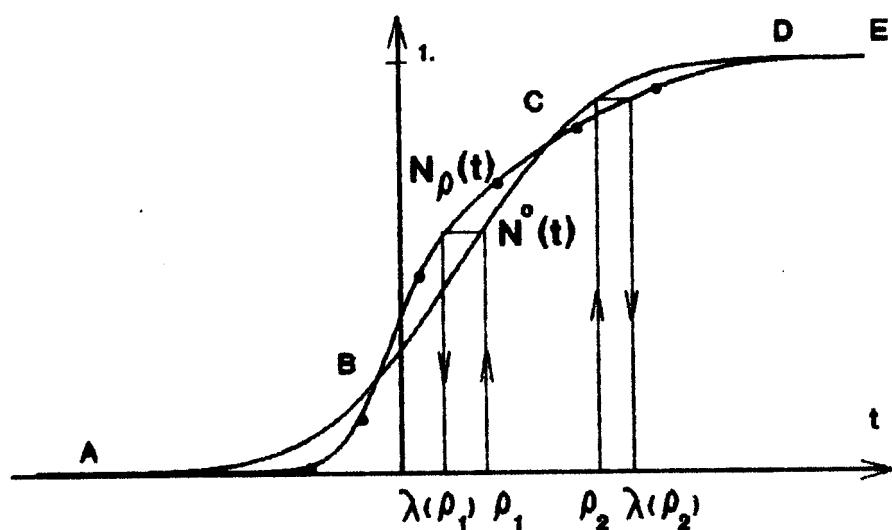


Рис.4.2. Кумулятивные функции синтезов разрешения 4A и схема определения модифицирующей функции $\lambda_p(t)$:
— точные модули и фазы;
---·---·---·---·--- точные модули, случайные фазы.

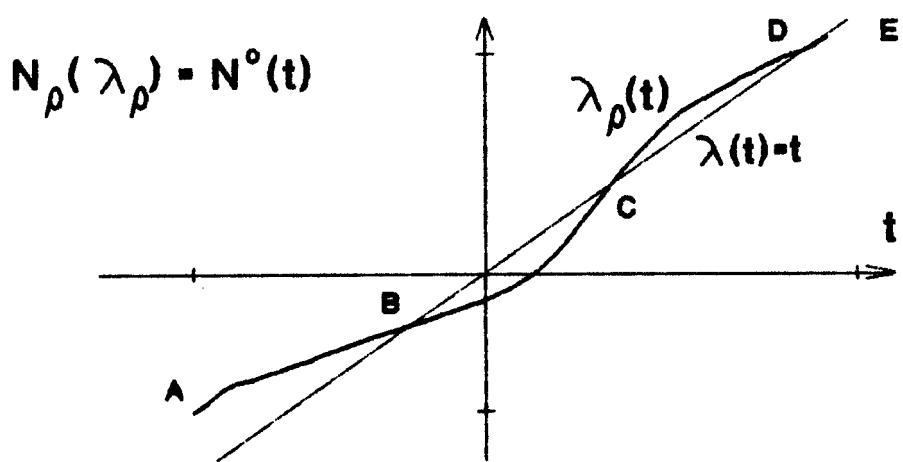


Рис.4.3. Модифицирующая функция $\lambda_p(t)$ для синтеза со случайными фазами.

соответственно, в модифицируемых синтезах) модифицирующая функция $\lambda_p(t)$ становится близка к тождественному преобразованию $\lambda(t)=t$. В такой ситуации функция (4.52) уже не восстанавливает, а скорее, наоборот, искажает гистограмму. Поэтому можно ожидать, что в таком случае метод модификации электронной плотности будет работать хуже, нежели методы, восстанавливающие гистограмму.

4.4. Сравнение методов уточнения фаз структурных факторов, использующих информацию о гистограммах.

Для сравнения эффективности упомянутых выше методов было проведено несколько тестов. В этих тестах для проверки правильности получаемых результатов использовались модули и фазы структурных факторов, рассчитанных по атомной модели цитохрома B5 [110]. В рассчитанные по модели фазы нц/с рефлексов (мы будем далее ссылаться на них как на "точные") была внесена случайная ошибка, распределенная по закону

$$P(\Delta\phi) \sim \exp [-\alpha \cos(\Delta\phi)] . \quad (4.53)$$

Параметр α выбирался таким образом, чтобы обеспечивать заданную среднюю величину ошибки (разную в разных тестах). Фазы ц/с рефлексов были взяты точными.

Для уточнения стартовых значений фаз использовались три метода :

- а) минимизация критерия (4.32) методом наискорейшего спуска;
- б) итерационная процедура (4.46)-(4.49) "Histogram specification" метода;
- в) метод модификации электронной плотности с модифицирующей функцией (4.52).

В качестве эталонной гистограммы была взята гистограмма, отвечающая синтезу разрешения 4А, рассчитанному с точными значениями фаз. По ходу уточнения контролировались три характеристики текущего набора фаз :

$$Q_\varphi = \langle |\varphi^o - \varphi^e| \rangle , \quad (4.54)$$

$$Q_B = \left\{ \int_V (\rho^o(\mathbf{r}) - \rho^e(\mathbf{r}))^2 dV_r / \int_V (\rho^o(\mathbf{r}))^2 dV_r \right\}^{1/2}, \quad (4.55)$$

$$R = \sum_s |F^o(s) - g(s)| / \sum_s |F^o(s)| . \quad (4.56)$$

Здесь $g(s)$ – модуль структурного фактора модифицированного синтеза (см.(4.48)).

Уточнение фаз всех нц/с рефлексов.

В этом тесте средняя ошибка в стартовых фазах составляла 70° , варьируемыми параметрами являлись фазы всех нц/с рефлексов. В Таблице 4.1 приведены результаты уточнения значений фаз различными методами. Из таблицы видно, что в этой ситуации ни один из рассматриваемых методов не привел к успеху.

Уточнение фаз сильных нц/с рефлексов.

В этом тесте стартовая средняя ошибка в фазах также составляла 70° , но варьировались только фазы сильнейших нц/с рефлексов (127 рефлексов из 579). Фазы слабых нц/с рефлексов были зафиксированы на ошибочных значениях (с внесенной случайной ошибкой). В Таблице 4.2 приведены результаты уточнения.

Из результатов теста видно, что в этой ситуации все три метода дали близкие результаты, хотя более быстрая сходимость была достигнута в минимизационном методе. Неудача в первом тесте, по всей видимости, объясняется тем,

что гистограмма может быть улучшена за счет синхронных локальных подвижек фаз многочисленных слабых рефлексов. Запрещение "синхронизации" фаз слабых рефлексов, то есть разрешение исправлять гистограмму только за счет сдвига сильных гармоник, качественно изменило ход уточнения.

Дальнейшие тесты с разными уровнями ошибок в стартовых фазах и разными стратегиями уточнения показали, что характер результатов, приведенных в Таблицах 4.1 и 4.2, сохраняется. Общие выводы из сравнения методов :

- а) все три метода приводят к сравнимым по качеству результатам, при этом наиболее быструю сходимость дает минимизационный метод, наиболее медленную - стандартный метод модификации электронной плотности;
- б) при больших стартовых ошибках в фазах все три метода приводят к наборам фаз, сильно отличающимся от правильных, но воспроизводящим достаточно правильную гистограмму.

Из вывода б) следует, в частности, что при среднем разрешении гистограмма сама по себе не дает еще возможности однозначного определения фаз, и возможности ее ограничены локальным уточнением при наличии достаточно хороших стартовых фаз. Ситуация может существенно улучшиться, если включить в работу помимо гистограммной информации другие источники дополнительной информации. Так, по утверждению авторов работы [78], совместное использование гистограммы и информации об области, занятой молекулой, дало при высоком разрешении существенно лучшие результаты, нежели использование только информации об области молекулы или использования методики улучшения фаз за счет "уточнения грубой модели" [III-II3].

Таблица 4.1. Результаты уточнения значений фаз различными методами (все нц/с фазы варьировались).

Метод	Q_ϕ (согл.(4.54))			Q_s (согл.(4.55))			R (согл.(4.56))			
	число циклов			число циклов			число циклов			
	0	25	75		0	25	75	I	25	75
FRR	72°	75°	-	0.98	0.96	-	-	-	-	-
HS/HM	72°	71°	73°	0.98	0.96	0.96	.144	.021	.008	
DM	72°	81°	81°	0.98	1.01	1.03	.600	.800	.848	

FRR - frequencies - restrained refinement (минимизация критерия (4.32))

HS/HM - histogram specification / histogram matching

DM - density modification

Таблица 4.2. Результаты уточнения значений фаз различными методами (фазы наиболее сильных нц/с рефлексов варьировались).

Метод	Q_ϕ (согл.(4.54))			Q_s (согл.(4.55))			R (согл.(4.56))			
	число циклов			число циклов			число циклов			
	0	25	75		0	25	75	I	25	75
FRR	72°	53°	-	0.98	0.86	-	-	-	-	-
HS/HM	72°	59°	58°	0.96	0.91	0.88	.144	.082	.066	
DM	72°	55°	54°	0.96	0.88	0.88	.600	.741	.742	